



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**ORGANOMINERÁLNÍ GEL JAKO NOVÝ KONCEPT
STRUKTURNÍ A KOLOIDNÍ CHARAKTERIZACE PŮD**

ORGANOMINERAL GEL AS A NEW CONCEPT OF STRUCTURAL AND COLLOIDAL
CHARACTERIZATION OF SOILS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Ondřej Kundera

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.

BRNO 2017

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1012/2016
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Bc. Ondřej Kundera**
Studijní program: Spotřební chemie
Studijní obor: Spotřební chemie
Vedoucí práce: **Ing. Petr Sedláček, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název diplomové práce:

Organominerální gel jako nový koncept strukturní a koloidní charakterizace půd

Zadání diplomové práce:

1. Vypracovat aktuální literární rešerši na téma organominerálního gelu.
2. Na základě literární rešerše navrhnout a realizovat sérii experimentů za účelem získu nových poznatků v oblasti struktury a vlastností organominerálního gelu.
3. Získaná experimentální data analyzovat a diskutovat v kontextu rozšíření současného stavu znalostí o organominerálním gelu. Navrhnout další směřování experimentálního studia v této oblasti.

Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Ondřej Kundera
student

Ing. Petr Sedláček, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

V Brně dne 31.1.2017

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zaměřuje na organominerální složky obsažené v půdě, a to konkrétně především na jejich charakterizaci pomocí dostupných analytických metod (FT–IR spektrofotometrie, termická analýza, rentgenová krystalografie, emisní spektrometrie, elektronový mikroskop) a na jejich mikrobiální aktivitu. Poznatky z tohoto experimentu by měli přispět k lepšímu porozumění funkce těchto gelů v půdě, stejně tak jako jejich významu pro floru a faunu v půdě obsaženou. Teoretická část je zaměřená na půdu a huminové látky, protože na základě dosud publikovaných prací se předpokládá důležitá role těchto látek při tvorbě organominerálních gelů. Praktická část práce řeší strukturu a funkční vlastnosti organominerálního gelu.

ABSTRACT

The aim of this study is the organomineral gel contained in soil, mainly the characterization using electron microscopy and available analytical methods like IR-spectrometry, thermal analysis, X-ray crystallography and emission spectrometry. The knowledge from this study may help to define function and significance of this gels to soils and nature. The theoretical part of this thesis deals with soil, humic substances and minerals occurring in soils. The experimental part solves especially the structure and further characterization of organomineral gels.

KLÍČOVÁ SLOVA

Organominerální gel, huminové látky, minerály, charakterizace

KEYWORDS

Organomineral gel, humic substances, minerals, characterization

KUNDERA, O. *Organominerální gel jako nový koncept strukturní a koloidní charakterizace půd*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 62 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Petr Sedláček, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracoval samostatně a všechny použité literární zdroje jsem odcitoval správně a úplně. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

Poděkování:

Mé vřelé poděkování patří Ing. Petru Sedláčkovi Ph.D., za jeho neutuchající vytrvalost při vedení experimentální činnosti, z které jsem nabral mnoho užitečných informací. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat rodině, ve které jsem během studií nacházel potřebnou oporu.

OBSAH

1 ÚVOD	6
2 TEORETICKÁ ČÁST	7
2.1 PŮDA	7
2.1.1 Definice půdy	7
2.1.2 Složení půdy	8
2.1.3 Struktura půdy	9
2.1.4 Klasifikace půd	10
2.1.5 Vznik půdy	13
2.1.6 Funkce půdy	16
2.2 ORGANICKÁ FRAKCE PŮDY	17
2.2.1 Huminové látky	19
2.2.2 Rozdělení huminových látek	20
2.2.3 Vznik huminových látek	21
2.2.4 Reaktivita huminových látek	24
2.2.5 Struktura huminových látek	25
2.3 ANORGANICKÁ FRAKCE PŮDY	27
2.3.1 Prvky v půdě	27
3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	29
4 POUŽITÉ MATERIÁLY A METODY	34
4.1 MATERIÁLY	34
4.2 PŘÍSTROJE	34
5 PRAKTICKÁ ČÁST	35
5.1 OPTIMALIZACE IZOLACE ORGANOMINERÁLNÍHO GELU	35
5.2 STRUKTURA ORGANOMINERÁLNÍHO GELU	41
5.3 CHEMICKÉ SLOŽENÍ ORGANOMINERÁLNÍHO GELU	43
5.4 VLIV ORGANOMINERÁLNÍHO GELU NA RŮST PŮDNÍCH BAKTERIÍ	51
6 DISKUZE VÝSLEDKŮ	53
7 ZÁVĚR	55
8 SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY	56
9 SEZNAM ZTRATEK	61
10 PŘÍLOHA	62

1 ÚVOD

Z chemického hlediska se v půdě od pradávna prolínají dva světy, organický a anorganický. Tvoří fungující útvar, který je využíván například k obživě, úkrytu nebo jako stavební materiál. Přítomnost půdy v našich zeměpisných šířkách bereme jako samozřejmost, ovšem není tomu všude na světě. Existují místa, kde je nedostatek kvalitní úrodné půdy. Uvědomění důležitosti tohoto prvku pro životní prostředí, je stěžejní pro motivaci k jeho důkladnému zkoumání a pochopení.

Jako v každém přírodním systému i zde platí určitá pravidla, které udržují přirozenou rovnováhu tak, aby půda plnila svoji funkci. Právě studium mechanismů, které udržují rovnováhu, nás posouvá dále k pochopení tak složitého systému, jako půda je.

Před několika lety začal tým kolem prof. Fedotova publikovat články o, téměř záhadném, půdním gelu, tzv. „soil gel“. Od té doby se tato složka velmi pomalu dostává do povědomí ve vědecké sféře. První informace od tohoto týmu ovšem nebyli o izolaci tohoto gelu z půdy, ale již o jeho chemické a strukturní charakterizaci. Překvapivě na problematiku izolace gelu z půdy již byla v dřívějších dobách vydána publikace od Soil Science Society of America. Zde se na 4 stránkách autoři pokusili shrnout, že jednoduchý nápad jako kapilárně hydratovat vysušenou půdu, může přinést zrození nové půdní entity.

Patrně tehdy ještě netušili, že ten tenký film, který vznikl na hladině není specifický pro určitý druh půdy, ale je velmi univerzální. Vzniká z prakticky kterékoliv „živé“ půdy a jeho složení je stejně tak závislé na půdě jako jeho existence samotná.

Důvodem, proč půdní gel, námi nazývaný jako organominerální gel (OMG), není vědecky populární a rozšířený v povědomí již dlouhá léta, je pravděpodobně jeho nenápadnost. Za normálních podmínek je téměř neviditelný, ve volné přírodě těžce zaznamatelný. Možná je zodpovědný za udržování homeostáze v půdě, možná má transportní funkci, možná slouží jako obal půdních částic proti vysoušení a degradaci. Možných scénářů je několik, ale jedno je jisté, půda ho obsahuje z nějakého důvodu.

Tato diplomová práce, je rozdělena na 3 části. Teoretická část pojednává o půdě, huminových látkách a minerálech, které se v půdě vyskytují. Následující část podává informace o současném stavu výzkumu organominerálního gelu, jsou zde shrnuty dosavadní studie o organominerálním gelu, metody, které byly použity a samozřejmě výsledky těchto zkoumání. V poslední, teoretické části jsou výsledky experimentů, které by měly přispět k hlubšímu poznání zmíněného gelu v oblasti strukturní, chemické a mikrobiální.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Půda

Člověkem byla půda donedávna vnímána jako zdroj stavebních surovin a materiálů, prostor pro výstavbu nebo pouze médium pro pěstování plodin pro obživu, tedy jako nejnižší složka potravního řetězce. Z enviromentálního pohledu je třeba půdu chápat jako ekosystém, ve kterém vzájemnou interakcí jednotlivých složek dochází k pozitivnímu nebo negativnímu ovlivňování jeho kvality. Z tohoto důvodu je potřeba půdu vnímat jako oživenou, dynamickou a životně důležitou složku ekosystému, která by svou kvalitou měla podporovat zdravý vývoj rostlin a živočichů, biologickou produktivitu a neohrožovat zdraví lidí.

Půda je prostředím, v němž probíhá archeologický a paleontologický výzkum, a které slouží k zachování genofondu rostlin, a též nepřímo pomáhá i k zachování genofondu živočichů.

Na půdu, obecněji pedosféru, se proto musí nahlížet jako na komplexní, otevřený a polyfázový strukturní systém, který se mění působením exogenních, endogenních a antropogenních neboli půdotvorných činitelů. Základními půdotvornými činiteli jsou: matečná hornina, geomorfologie terénu, klima, charakter vegetačního pokrytí, podzemní voda, míra lidské činnosti a doba působení těchto činitelů.

Při popisu charakteristických znaků půdy je nutné uvědomit si, že při půdotvorném procesu působí všechny činitele současně a vzájemně se ovlivňují, čímž vzniká specifický půdní typ, s charakteristickým uspořádáním genetických půdních horizontů. Jednotlivé půdní horizonty se od sebe odlišují ve fyzikálních (např. morfologie, barva, vlhkost), chemických (celkový obsah uhlíku, dusíku, rizikových prvků atd.) a biologických vlastnostech [1].

Člověk půdu svojí činností ovlivňuje a přetváří, čímž může způsobit její značné proměny až úplnou devastaci. Nezodpovědný zásah tak může v poměrně krátké době zcela zničit to, co se tvořilo v průběhu stovek až tisíců let. Je tedy nezbytné, abychom půdu využívali ohleduplně a zajistili její ochranu nejen z hlediska udržení její úrodnosti, ale také z hlediska ochrany proti degradaci a znečištění. Důležitá je rovněž ochrana zemědělské půdy před záboru v souvislosti s rozrůstáním obcí, výstavbou průmyslových zón, těžební činností, nebo výstavbou dopravní infrastruktury [2, 3].

2.1.1 Definice půdy

Půda je morfologicky organizována a utváří nejsvrchnější vrstvu zemské kůry. Vzniká v procesu pedogeneze vlivem vnějších faktorů a je produktem přeměn minerálních a organických látek. Geograficky lze půdu popsat jako část krajinné sféry, kde se stýkají a prolínají dílčí krajinné sféry. Přičemž každá půda by měla obsahovat podíl regolitu, vzduchu, organické hmoty a vody. Tento podíl též zastupují dílčí geosféry: litosféra, atmosféra, biosféra a hydrosféra. Absence jedné z těchto složek vylučuje existenci půdy. V půdě tyto složky tvoří složitý heterogenní polydisperzní systém.

Podíl těchto složek v půdě předurčuje její fyzikální a chemické vlastnosti, které mohou vést k vyšší úrodnosti nebo k neúrodné půdě. Základní chemickou vlastností půdy je reakce v půdním roztoku [4].

2.1.2 Složení půdy

Půda je zpravidla tvořena písčítými, hlinitými a jílovitými částicemi jako zástupci pevné složky a vodou jako zástupce kapalné složky. Mezi zástupce plynné složky řadíme dusík, kyslík, oxid uhličitý a vzácné plyny. Obecně lze říci že plynná složka se kvalitativně příliš neliší od vzduchu který dýcháme, rozdíl je kvantitativní [4].

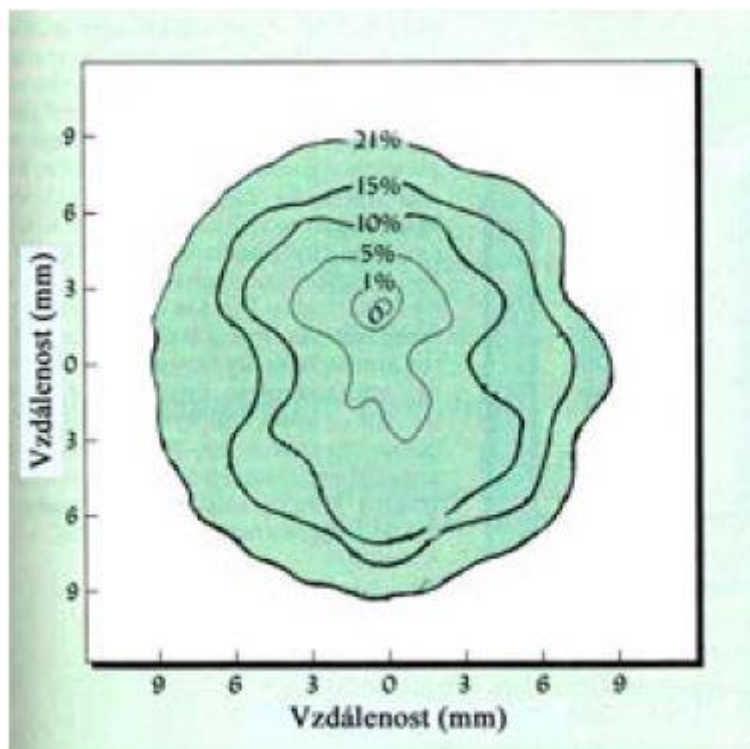
Na složení půdy lze nahlížet pomocí skupenství, kde rozlišujeme tři složky: pevnou, kapalnou a plynnou. Mezi těmito složkami neustále probíhá přenos hmoty i energie.

Pevná složka vzniká rozkladem hornin, obsahuje primární a sekundární minerály. Taktéž zahrnuje organickou neživou hmotu humus a živou složku půdy.

Kapalná složka vyplňuje póry pevné složky, kde se volně pohybuje půdním prostorem. Je obohacována o látky z dalších dvou půdních složek a tím vzniká půdní roztok. Gravitace zapříčiňuje, že kapalná složka může dosáhnout jak k podzemní vodě, tak může být vázána na povrch půdních částic jako adsorpční voda, nebo může být vázána adhezními silami coby kapilární voda. To umožňuje spojení mezi podzemní a povrchovou vodou. Obecně si lze kapalnou složku představit jako matrici, která slouží k přenosu dalších dvou půdních složek.

Plynná složka půdy je kapalnou složkou převáděna a uzavírána v půdním prostoru. Půdní vzduch obsahuje procentuálně několikanásobně víc oxidu uhličitého (0,1 - 5 %) než atmosférický vzduch kvůli dýchání půdních organismů a podzemních částí rostlin. Stejně tak je bohatší na vyšší podíl vodní páry, než je vzduch nad úrovní terénu. Obsah kyslíku se pohybuje v rozmezí 10 – 20 %, což je ovlivněno různou aerací půdy. Obvykle obsah kyslíku klesá směrem do hloubky. Na obrázku 1 lze vidět proměnlivý obsah kyslíku v půdním agregátu. Obsah inertních plynů kolísá okolo 0,9 %. Zastoupení dusíku v půdě závisí na obsahu kyslíku a zmiňovaného oxidu uhličitého. Další plyny jako oxid dusný a ethylen se vyskytují v menší míře díky mikroorganismům. Metan a další nasycené uhlovodíky při nadbytku organické hmoty (často zaplavované půdy).

Pohyb těchto složek umožňuje stabilitu půdy pro její vlastní existenci. Pevná složka půdy se bez vnějšího zásahu nedokáže pohybovat. Kapalná složka je právě pro tento pohyb ideální, a má díky tomu velmi proměnlivé složení. Půdní vzduch nelze označit za pohybující se, ale za proměnlivý díky spojení s atmosférickým vzduchem. Obecně lze říci, že pohyb v půdě z 10 % zapříčiňuje proudění a z 90 % difúze. Hlavní silou proudění je tlakový gradient a změna teploty, proti tomu stojí propustnost pórů. Motorem difúze je difúzní gradient, respektive rozdíl chemických potenciálů [5].



Obrázek 1: Obsah kyslíku [4]

2.1.3 Struktura půdy

Přestože se jedná o individuální znak půdy, neměla by v popisu vlastností chybět. Struktura půdy je chápána jako prostorové uspořádání elementárních částic i agregátů. Při samovolném nebo vnějším tlakem vyvolaném rozpadu půdy vznikají agregáty různé velikosti, tvaru a stability. Podle velikosti agregátů lze v základním dělení rozlišit mikrostrukturu ($<0,25$ mm), makrostrukturu (0,25-50 mm) a megastrukturu (>50 mm). Na tvorbě struktury se podílí různé síly (mezimolekulární, adhezní, kapilární atd.), jejichž účinkem může půda agregovat do různých stavů [6]:

- homogenní stav hmoty – jednotlivé částice jsou stmeleny v souvislou masu, například půdy s vysokým obsahem jílových částic,
- elementární stav hmoty – jednotlivé půdní částice jsou spojeny v agregáty,
- agregátový stav půdní hmoty – alespoň část půdy je agregována nebo segregována, vykazuje systém odlučných ploch a rozpadává se na strukturní elementy [7].

Popis jednotlivých typů struktury je uveden v tabulce 1. Agronomicky je také významná stabilita půdních agregátů (odolnost proti rozplavování vodou nebo účinky mechanických tlaků), která se zvyšuje v přítomnosti dostatku organických látek, vápníku a příznivého zrnitostního složení. Dobrá struktura půdy se stabilními agregáty (o průměru 1 – 10 mm) je podstatným znakem tzv. zralosti půdy, představující optimální stav fyzikálních i biologických vlastností půdy [8].

Tabulka 1: Strukturní typy částic

A – Isometrické strukturní elementy (všechny tři rozměry přibližně stejné)					
A1 – Kulovitá struktura		A2 – Zrnitá struktura		A3 – Polyedrická struktura	
hrudovitá	>50	zrnitá	10 – 5	polyedrická	>10
hrudkovitá	50 – 10				
drobtovitá	10 – 5	jemně zrnitá	5 – 1	drobně polyedrická	<10
jemně	5 – 1				
prášková	>1				
B – Anisometrické strukturní elementy (jeden nebo dva rozměry se liší)					
B1 – Vertikálně protažené elementy			B2 – Horizontálně protažené elementy		
hrubě prismatická		>50	deskovitá		>5
prismatická		50 – 20	destičkovitá		5 – 2
drobně prismatická		<20	lístkovitá		<2

2.1.4 Klasifikace půd

Podle toho, jaké částice v půdě převažují, rozlišujeme různé půdní druhy. Jaký druh půdy vznikne závisí na především na matečné hornině a způsobu vzniku. Půdní druh seskupuje půdy o stejných vlastnostech (úrodnost, náchylnost k erozi). V tabulce 2 lze vidět uspořádání půd podle taxonomického klasifikačního systému půd, který platí v České a Slovenské republice [9].

Tabulka 2: Rozdělení půd

Referenční třída půd	Půdní typ
Leptosoly	Litozem, Ranker, Rendzina, Pararendzina
Regosoly	Regozem
Fluvisoly	Fluvizem, Koluvizem
Vertisoly	Smonice
Andosoly	Andozem
Černosoly	Černozem, Černice
Luisoly	Šedozem, Hnědozem, Luvizem
Kambisoly	Kambizem, Pelozem
Podzosoly	Kryptopodzol, Podzol
Stagnosoly	Pseudoglej, Stagnoglej
Glejsoly	Glej
Organosoly	Organozem
Salisoly	Solončák
Natrisoly	Slanec
Antroposoly	Kultizem, Antrozem

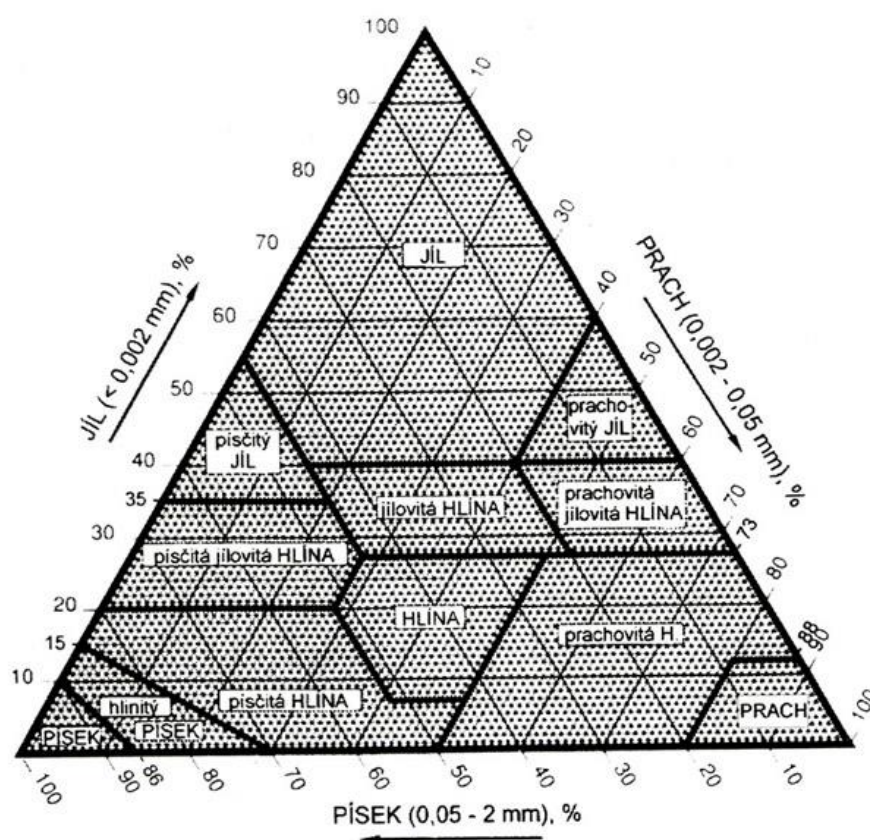
Černozem, jako zástupce úrodných půd se liší vysokým obsahem humusu, naproti tomu podzolová půda je kyselá a málo úrodná půda severských jehličnatých lesů. Šedozem vzniká v listnatých lesích. Rendzina je zajímavá vysokým obsahem vápenatých iontů, protože se vyskytuje v krasovém území. Všude rozšířená hnědozem se vyskytuje v mírném pásu a je pravidelně hnojená pro vyšší výnosy. A vývojově mladé Nivní půdy, které jsou velmi úrodné díky své blízkosti k vodním zdrojům [10, 11]. Pevná minerální složka půdy je charakterizována různou velikostí částic (zrn). Soubor zrn určité velikosti tvoří frakci – zrnitostní kategorii. Poměrné zastoupení frakcí charakterizuje půdu z hlediska půdní zrnitosti (textury) a předurčuje její zařazení v klasifikaci půdních druhů. Půdní zrnitost je základní fyzikální vlastnost půdy.

Tabulka 3: Nováková klasifikační stupnice [12]

Obsah částic menších než 0,01 mm v %	Označení druhu půdy		Klasifikace půdy
0 – 10	písčítá	P	lehká
10 – 20	hlinitopísčítá	HP	
20 – 30	písčitohlinitá	PH	
30 – 45	hlinitá	HP	středně těžká
45 – 60	jílovitohlinitá	JH	
60 – 75	jílovitá	JV	těžká
přes 75	jíl (nebo prchlice)	J	

Přiřazení druhu půdy se odvíjí od účelu pedologického průzkumu, a existuje několik způsobů klasifikace. Pro agrochemické zkoušení zemědělských půd a zjišťování půdních vlastností lesních pozemků je používána Novákova klasifikační stupnice [12] (Tabulka 3) nebo hodnocení dle trojúhelníkového diagramu NRSCS USDA [12] (Obrázek 2).

Obsahuje-li půda přes 75 % skeletu, klasifikuje se jako štěrkovitá nebo kamenitá. Pokud je jeho obsah menší, označuje se podle zrnitosti jemnozeme a připojí se označení příměsí skeletu: slabě štěrkovitá (10-25 %), středně štěrkovitá (do 50 %), silně štěrkovitá (nebo kamenitá (50-75 %). Vápnité zeminy se označují podle obsahu CaCO_3 , rozeznáváme tak: zeminy slabě vápnité (do 3 %), vápnité (do 25 %), slíny (do 60 %) a vápnité zeminy (přes 60 %). Humusové zeminy obsahují přes 20 % humusu a označují se podle obsahu jílových částic: písčité (do 20 %), hlinité (do 45 %) a jílovité (přes 45 %) [12, 13].



Obrázek 2: Trojúhelníkový diagram [12]

Avšak při geotechnickém průzkumu jsou brány v úvahu i další inženýrské vlastnosti půdy, a proto se pojmenování a zařizování zemin odlišuje od běžné pedologické klasifikace. Mezinárodní unifikované třídění v geotechnickém zkoušení zemin se řídí velikostí zrn jednotlivých frakcí (tabulka 4) [8, 14, 15].

Tabulka 4: Mezinárodní unifikované třídění [14]

Skupina půd	Frakce	Označení	Velikost zrn (mm)
velmi hrubozrnné	velký balvan	Lbo	>630
	balvan	Bo	630 – 200
	valoun	Co	200 – 63
hrubozrnné	štěrk	Gr	63 – 2,0
	hrubozrnný štěrka	CGr	63 – 20
	střednězrnný štěrka	MGr	20 – 6,3
	jemnozrnný štěrka	FGr	6,3 – 2,0
	písek	Sa	2,0 – 0,063
	hrubozrnný písek	Csa	2,0 – 0,63
	střednězrnný písek	Msa	0,63 – 0,2
	jemnozrnný písek	Fsa	0,2 – 0,063
jemnozrnné	prach	Si	0,063 – 0,002
	hrubozrnný prach	Csi	0,063 – 0,02
	střednězrnný prach	Msi	0,02 – 0,0063
	jemnozrnný prach	Fsi	0,0063 – 0,002
	jíl	Cl	<0,002

2.1.5 Vznik půdy

Materiál, ze kterého vzniká půda se nazývá matečná hornina. Na matečnou horninu působí chemické a fyzikální změny, jejichž působením dochází k rozrušování a rozpadu na zvětralinu. Tento proces se nazývá zvětrávání a je to velmi pomalý proces, pro představu 1 cm půdy vzniká 100 let a dotvoření celého půdního profilu až 1000 let. Zvětrávání je silně ovlivněno klimatickými podmínkami (srážky, teplota atd.) a vlastnostmi horniny (struktura, minerální složení atd.). Zvětráváním vzniká na zemském povrchu zóna, složená z produktů zvětrávání tzv. zvětralinový plášť, který se následným procesem humifikace přeměňuje na půdu.

Zvětrávání se dělí na 3 typy: fyzikální, chemické a biologické. Tyto typy se ve většině případů prolínají a působí společně na matečnou horninu. Pro určité oblasti jsou charakteristické různé kombinace zvětrávání, které v dané oblasti většinu převládají.

Fyzikální zvětrávání se uplatňuje v oblastech s vysokou mírou srážek a teplotou kolísající okolo 0 °C. Horniny na povrchu jsou vystaveny teplotním změnám, ve dne jsou zahřívány slunečními paprsky a v noci dochází k ochlazení. Důsledkem teplotních a objemových změn jsou pukliny a praskliny, které vedou k rozpadu horniny. Nejintenzivněji probíhá u minerálů tmavé barvy a v pouštních oblastech.

Na rozpadu se podílí i voda, při střídavém mrznutí a tání v puklinách a prasklinách. To je specifické v periglaciálních oblastech, kde tekoucí voda a ledovce přemísťují horniny a dochází tím k omílání kusů hornin, jejich rozpadu a zaoblování. Jednoduchým příkladem jsou oblázky v řece.

Chemické zvětrávání je silně závislé na minerálním složení hornin. Jedním ze způsobů chemického zvětrávání je oxidace. Postihuje především nestabilní horninové složky a vytváří nové sekundární minerály. Oxidací vzniká např. z magnetitu hematit, pyrit a markazit oxiduje na limonit, který barví zvětralé horniny hnědou až rezavou barvou. Nejběžnějším a nejjednodušším způsobem zvětrávání je rozpouštění, atmosférická voda nebo vodní pára reaguje se vzdušným oxidem uhličitým za vzniku roztoku kyseliny uhličité, která rozpouští určité minerály během vsakování do půdy. Kvůli vsakování se také rozšiřují půdní pukliny a postupně dochází k tvorbě jeskyň. V oblastech s dobře rozpustnými horninami (vápenec atd) takto vznikají krasové jevy, více známé jako krápníkové jeskyně. Hloubkový dosah chemického zvětrávání je přibližně dán možností cirkulace vody v horninovém prostředí.

Karbonataci se díky zvětrávání utvářejí nové uhličitany. Reakce kyseliny uhličité H_2CO_3 s oxidem vápenatým CaO , uvolněným z minerálů, vede ke vzniku uhličitán vápenatý CaCO_3 , stejným postupem vznikne z oxidu hořečnatého MgO , uhličitán hořečnatý MgCO_3 .

Další možností degradace hornin je hydratace. Dochází k ní při zvětrávání bezvodých minerálů, například anhydrit síranu vápenatého CaSO_4 se hydratací mění na sádrovec $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. S významným chemickým zvětráváním se můžeme setkat ve vlhkých tropech. Výsledkem v našich zeměpisných šířkách je půdní jíl [16].

Na *biologickém zvětrávání* se podílejí živé organismy, převážně mikroorganismy, které svojí činností vyvolávají rozklad hornin. Nejčastější je rozklad lišejníků, které uvolňují kyselinu, jež rozrušuje horniny, což má za následek jejich rozpad a vznik půd. Nejvýznamněji však působí stromy, které se podílejí na rozrušování hornin kořenovým systémem, který je schopen se dostat do velmi malých prasklin a následně způsobit rozpad hornin. Například borovice dokáže svými kořeny proniknout do skály a neustále vyvíjeným tlakem působit na horniny a způsobit jejich narušení a rozpad. Na druhou stranu kořenový systém funguje i jako tmel, který zabraňuje dalšímu fyzikálnímu rozrušování.

Vznik půdy samozřejmě provází i zánik půdy. V globálním měřítku je největší hrozbou přeměna úrodných půd v pouště, tzv. desertifikace. Mezi typy degradace půd zahrnujeme také půdní erozi způsobenou v tropických oblastech odlesněním a následným smyvem humusového horizontu, nebo erozi zapříčiněnou nevhodným způsobem hospodaření. V některých regionech světa je problémem degradace půdy vlivem zasolování nebo okyselování půd (acidifikace), na kterém má významný podíl lidská činnost. Člověk je také často jedinou příčinou chemické kontaminace půd, zhutnění půd, zaborů půdy či úbytku druhů. Velmi často se jednotlivé typy degradace kombinují a probíhají současně.

U zemědělské půdy mohou být zdrojem kontaminace chemicky vyrobená hnojiva, zejména pokud jsou použita v nesprávnou dobu v nadměrném množství či nevhodném poměru. Dalším zdrojem kontaminace je používání chemických přípravků na ochranu rostlin (chemické postřiky k hubení škodlivých organismů – pesticidy, herbicidy, insekticidy a jiné). Kontaminaci půdy způsobují také imise ze znečištěného ovzduší z průmyslu a dopravy.

Kontaminovaná půda se tak může stát zdrojem zdraví škodlivých látek. Člověk půdní částice vdechuje ve formě prachu a půdy, které se běžně vyskytují na chodnících, vozovkách, zahrádkách a polích. Chemikálie můžeme rovněž přijímat z potravin vypěstovaných na chemicky ošetřovaných půdách nebo z potravin přímo chemicky ošetřených.

Kromě negativních dopadů na produkční a ekologické funkce půdy může být ztráta biodiverzity též nenávratnou ztrátou genetické informace [17, 18].

2.1.6 Funkce půdy

Půdní částice lze chápat jako heterogenní směs humusu a anorganických koloidů, přičemž každá ze složek může být ve stejném okamžiku nositelem jiného náboje. Různé elektrolyty přítomné v půdním roztoku pak působením mezimolekulárních sil mohou být poutány k povrchu nebo zadržovány v kavitách půdních částic. Tento děj je označován jako sorpce a dle působících sil jej lze rozdělit na fyzikální sorpci (nevazebné síly – např. Van der Waalsovy), chemisorpci (vzniká chemická vazba) nebo iontově výměnná sorpce.

Soubor půdních koloidů, které se podílejí na výměnných reakcích, se nazývá půdní sorpční komplex skládající se z aktivní části (aniontová část) a pasivní části (kationty sorbované na aktivní části, přičemž nejslaběji je vázán $\text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{NH}_4^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Al}^{3+} < \text{Fe}^{3+}$). Pro kvantifikaci iontově výměnných vlastností sorpčního komplexu se používá kationtová výměnná kapacita (CEC), která je definována jako suma všech vyměnitelných kationtů v půdě za ionty Ba^{2+} nebo K^+ [7].

Stanovení CEC je po dlouhou dobu předmětem mnoha výzkumů, a proto existuje řada metod pro její stanovení. V reference [7] je uvedeno, že pro stanovení CEC se u vytěšňovacích metod používají roztoky solí (KCl , BaCl_2 , NH_4Cl , $\text{CH}_3\text{COONH}_4$, $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Ba}$ atd.), iontoměníčů, radioaktivních izotopů nebo lze použít instrumentální metody (konduktometrická titrace, iontově selektivní elektrody, plamenová fotometrie).

Acidobazické vlastnosti půdy jsou ovlivňovány především rozpustností anorganických i organických látek v půdě a jejich iontovýměnnou silou, produkty mikrobiální činnosti atd. Mírou acidobazických vlastností je aktivita H_3O^+ iontů neboli pH. V půdě se však oxoniové ionty nacházejí buď volně v půdním roztoku (aktivní forma) nebo jsou sorbovány na půdní částice (koloidy) a lze je uvolnit do půdního roztoku iontovýměnnou nebo hydrolytickou reakcí, tyto ionty se nacházejí v tzv. potenciální formě. Dalším možným zdrojem oxoniových kationtů jsou samotné kořeny rostlin, které jsou schopné do okolního prostředí uvolňovat jako oxoniové kationty tak i organické kyseliny. Tento mechanismus vede k výměně iontů na povrchu jílu a huminových částic, které zpřístupňují rostlinám živiny z chemických sloučenin [19].

Jsou-li oxoniové ionty přítomny v aktivní formě v půdním roztoku, je možné stanovit hodnotu pH přímým potenciometrickým měřením pomocí kombinované skleněné iontově selektivní elektrody. Ionty v aktivní formě se nejčastěji vyskytují v půdách odvápněných, sorpčně nenasyčených s vysokým podílem adsorbovaných iontů H^+ a Al^{3+} [20, 21].

Pokud jsou oxoniové ionty vázány na půdní částice, je jejich uvolnění možné pouze iontovou výměnou nebo hydrolyzou. Pro iontovou výměnu se používají nejčastěji roztoky 1 M KCl nebo 0,01 M CaCl_2 . Výsledné koncentrace se stanoví přímým měřením suspenze nebo titrací výluhu. Druhou možností uvolnění H_3O^+ iontů je hydrolytická reakce solí. Množství uvolněných oxoniových iontů se stanovuje titračně a výsledek je udáván [$\text{mmol H}^+ \times 100 \text{ g}^{-1}$ půdy] [20, 22].

2.2 Organická frakce půdy

Organický podíl tuhé fáze půdy (2 – 5 %) podmiňuje celou řadu pochodů příznivě ovlivňujících výživu a růst rostlin. Představuje velmi složitý komplex nejrůznějších organických sloučenin, které se dostávají do půdy například posklizňovými zbytky rostlin, organickými hnojivy nebo v půdě vznikají.

Veškeré organické látky v půdě dělíme na látky nehumifikované, humifikované a přechodné.

Nehumifikované organické látky tvoří 10 – 15 % z celkového organického podílu půdy a představují je nerozložené nebo částečně rozložené zbytky rostlin, organických hnojiv, živočichů včetně mikroorganismů a makroedafonu (půdní živočichové). Nerozložené zbytky rostlin, živočichů a organických hnojiv jsou postupně přeměňovány v půdě za účasti půdních mikroorganismů mineralizací a jeho konečnými produkty jsou voda, oxid uhličitý, amoniak, ionty K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$, aj. a mikroelementy (bór, mangan, měď, zinek, molybden atd.).

Vzhledem k tomu, že konečné produkty slouží k výživě rostlin, tvoří organické látky tzv. humus. Během procesu mineralizace se uvolňuje značné množství energie nezbytné pro vývoj a rozvoj půdních mikroorganismů, tedy obecně biologické činnosti půdy. Mineralizace organické hmoty probíhá poměrně rychle, její rychlost je však rozdílná a závisí na kvalitě a množství výchozího materiálu v půdě, přístupu vzduchu, teplotě půdy a půdní vlhkosti, půdní kyselosti a obsahu dusíkatých látek. K plnému rozkladu organické hmoty dochází za maximálního přístupu vzduchu.

Humifikované organické látky vznikají za omezeného přístupu vzduchu během procesu nazvaném humifikace v souběhu s částečnou mineralizací organické hmoty v půdě a za spolupůsobení enzymů vylučovaných řadou mikroorganismů. Během humifikace tak dochází k tvorbě nových, velmi složitých organických nebo organo-minerálních látek – jedná se o látky humusové. Nově vytvořené humusové látky v půdě jsou vysokomolekulární organo-minerální dusíkaté sloučeniny s řadou specifických a pro výživu rostlin i půdní úrodnost významných vlastností. Z celkového obsahu organických látek v půdě připadá na humifikované látky asi 85 – 90 %. Vzniklé humifikované látky mohou reagovat s jílovými minerály a vytvářet tak organo-minerální komplexy, které tvoří základ pro úrodnou strukturu půdy a zároveň vznik a udržení sorpčního komplexu půdy.

Humus, hlavní složku organické frakce, lze identifikovat jako soubor odumřelých organických látek rostlinného i živočišného původu. Humus si lze představit jako heterogenní, chemicky labilní, houbovitou hmotu, která má díky své složité pórovité struktuře schopnost zadržovat vodu a tím snižuje riziko povodní, dále je schopný imobilizovat toxické látky a vyrovnává pH půdy. Disponuje vysokou výměnou kapacitu pro živiny (dusík, vápník, hořčík, draslík aj.), které rostlinám postupně uvolňuje. Navázané živiny se tak nevyplavují do spodních a povrchových vod. Humus a ostatní půdní organická hmota zvyšuje kyprost, soudržnost a optimalizuje

mikrobiální osídlení půdy, čímž značně snižuje riziko půdní eroze. Obsah humusu v půdě je hodnotou relativně stálou, pokud je přirozeně zabezpečen trvalý přísun organických látek do půdy.

Humus dělíme na živý (=nerozložená organická hmota, kde rozkladem vznikají jednoduché organické látky) a trvalý (=část organických látek, která odolává biologickému rozkladu). Přičemž je zde několik dělení způsobu rozkladu organických látek v půdě:

- Mineralizace = rozklad za přístupu vzduchu za určité teploty a vlhkosti,
- Rašelinní = rozklad bez přístupu vzduchu s nadbytkem vody,
- Humifikace = rozklad za částečného přístupu vzduchu.

Humifikaci lze dělit podle množství vzduchu na:

- Tlení = rozklad za přístupu vzduchu,
- Kvašení = rozklad při omezeném množství vzduchu spojen s uvolňováním plynů,
- Hnití = rozklad při nedostatečném přístupu vzduchu.

Humus je tedy soubor organických látek v půdě původem z odumřelých zbytků rostlin, živočichů a mikroorganismů smíchaných s minerálním podílem půdy v různém stupni přeměny.

Půdní mikroorganismy lze obecně nazvat edafon a pro jednoduchost se dělí na fytoedafon (houby, aktinomycety, bakterie a řasy) a zooedafon (půdní živočichové). Edafon se významnou měrou podílí na půdotvorném procesu. Kromě mechanického rozrušování a pohybu složek půdní hmoty působí i chemicky, a to, jak ději rozkladnými, tak i ději skladnými například fotosyntézou [23, 24].

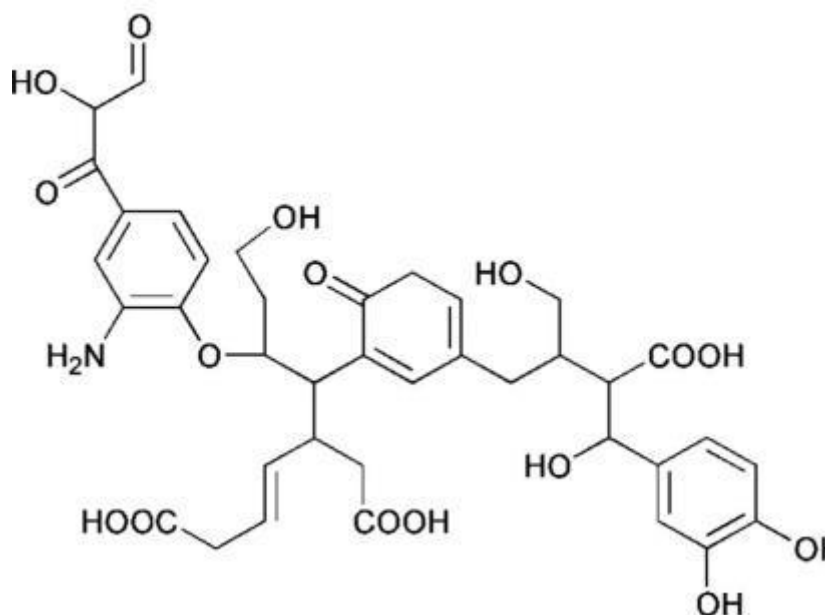
2.2.1 Huminové látky

Huminové látky (HL) patří do organické frakce půdy, vznikající nejčastěji chemickým a současně biologickým rozkladem organické hmoty (zbytků rostlin a živočichů) a syntetickou činností mikroorganismů. Přirozeně se vyskytují zejména v sedimentech, zeminách, rašelině, hnědém uhlí a lignitu.

Přítomnost HL v půdách byla prokázána na celém světě, což svědčí o vysoké variabilitě těchto látek. Pokud se vyskytují a vznikají na zamrzlých pláních Antarktidy až po vyschlé pouště Afriky, jsou to pravděpodobně nejodolnější přírodní organické sloučeniny.

Obsah HL v přírodních matricích kolísá od stopových množství v pískách a jílech, přes jednotky procent v běžných půdách až k desítkám procent v hnědém uhlí a lignitu. Obdivuhodně vysoký obsah vykazuje rašelina, ve které tvoří HL až 85 %. Uvádí se, že celkový obsah uhlíku ve formě HL je až $6 \cdot 10^{12}$ t, což převyšuje obsah uhlíku v živých organismech ($7 \cdot 10^{11}$ t uhlíku). I přes tento fakt se řadí mezi nejméně prostudované přírodní materiály [25].

V otázce struktury HL již dlouhá léta panují rozpory. Je zde několik návrhů možných struktur těchto složitých látek, ale poslední léta se vědecká společnost přiklání k teorii skládání nízkomolekulárních agregátů. Na obrázku 3 je vyobrazen model nízkomolekulární stavební jednotky HK navržený Steelinkem a spol. [26].



Obrázek 3: Model HL dle Steelinka a spol. [26].

Klasifikaci huminových látek vytvořil roku 1839 jeden z "otců chemie" Jöns Jacob Berzelius. První klasifikace dělila sloučeniny pouze podle rozpustnosti v alkalickém a kyselém prostředí. Z toho byly odvozeny 3 frakce HL:

- *huminy* (HU), látky, které nelze převést do roztoku, protože jsou ve vodném roztoku nerozpustné bez ohledu na jeho pH,
- *fulvinové kyseliny* (FK), látky rozpustné jak v alkalickém, tak v kyselém prostředí,
- *huminové kyseliny* (HK), látky rozpustné v alkalickém prostředí ovšem v silně kyselém prostředí dochází k jejich vysrážení.

Stěžejní faktor ovlivňující rozpustnost těchto látek je následující. V případě HK při silně kyselém prostředí, jsou funkční skupiny (zejména karboxylová a fenolická) protonizovány a tudíž nejsou disociované, což způsobuje, že při nízkých pH jsou tyto látky nerozpustné. V případě FK je důvod zřejmý z molekulové hmotnosti a obsahu různých funkčních skupin těchto kyselin.

Další odlišnost lze najít v zabarvení, FK jsou zabarveny spíše do žluté, která u HK přechází do hnědé a HU jsou zpravidla černé. Stejně rozdíly panují i v molekulových hmotnostech, kde FK řadíme mezi nízkomolekulární látky a HK společně s HU řadíme mezi vysokomolekulární. Tyto rozdíly jsou tvořeny především obsahem aromatických cyklů v molekulách, stejně tak jako obsahem funkčních skupin. I když je chemická struktura jednotlivých frakcí huminových látek dost podobná, liší se tyto frakce poměrně výrazně fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Tyto rozdíly jsou shrnuty v tabulce 5.

Humínové látky					
Fulvinové kyseliny		humínové kyseliny		humín	
Světle žlutá	Žluto-hnědá	Hnědá	Tmavě hnědá	Šedo-černá	Černá
>>>>>>>>>> obsah uhlíku >>>>>>>>>>					
<<<<<<<<<<< obsah kyslíku <<<<<<<<<<<					
>>>>>>>>>> rozpustnost >>>>>>>>>>					

Procentuální zastoupení jednotlivých frakcí HL v půdě se liší podle toho, o jaký typ půdy se jedná a v jaké oblasti se tato půda nachází. Například humus pralesních půd je poměrně bohatý na FK, zatímco humus rašelinišť a lučních půd je tvořen převážně HK a procento zastoupení FK je mizivé. Poměr obsahu HK a FK v půdě také většinou klesá s hloubkou odběru vzorku půdy [27, 28].

2.2.3 Vznik huminových látek

Teorie vzniku HL je dodnes v mnoha oblastech předmětem spekulací. Podle Felbeckovy studie [29] vznikají HL čtyřmi možnými způsoby:

- chemickou polymerizací,
- buněčnou autolýzou,
- mikrobiální syntézou,
- přeměnou rostlin.

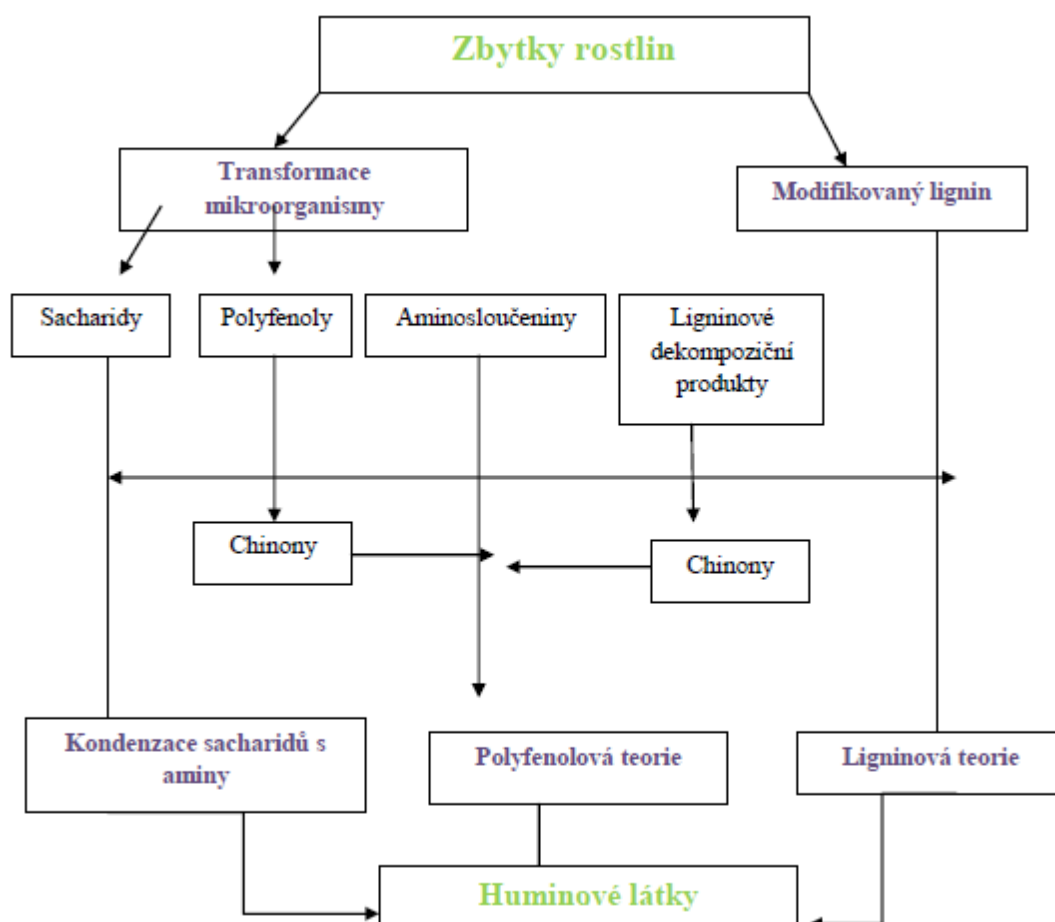
Hypotéza vzniku HL *chemickou polymerací* předpokládá, že mikroorganismy rozkládají rostlinný materiál na molekuly, přitom spotřebovávají uhlík a energii na syntézu fenolů nebo aminokyselin, a ty pak vylučují do svého okolí. Vyloučené látky se poté oxidují a polymerizují na HL.

V případě *buněčné autolýzy* by se jednalo o HL, které vznikly jako produkt rozpadu buněk rostlin a buněk mikrobů po jejich smrti. Vzniklý heterogenní materiál by se tvořil pomocí náhodných kondenzací a volnou radikálovou polymerizací buněčných zbytků (sacharidy, aminokyseliny atd.).

Vznik HL pomocí *mikrobiální syntézy* by probíhal vnitrobuněčnou syntézou vysokomolekulárních HL a mikroorganismy by pak získaly uhlík a energii z buněčných tkání [29].

V referencích [30, 31] můžeme najít další teorie vzniku HL, které jsou schematicky vyobrazeny na obrázku 4. Patří k nim:

- ligninová,
- polyfenolová,
- kondenzační (kondenzace aminosloučenin s redukujícími sacharidy).



Obrázek 4: Teorie vzniku huminových látek (Stevenson) [30]

Ligninová teorie

Dlouhou dobu se předpokládalo, že HL vznikly z ligninu. Činností mikroorganismů je lignin neúplně přeměněn a jeho zbytek se poté stává součástí půdního humusu. Lignin se během procesu strukturně mění a ztrácí methoxylové skupiny (OCH_3), které jsou původci tvorby orthohydroxyfenolů a oxidace postranních řetězců vedoucí ke vzniku karboxylových skupin (COOH).

Materiál dále prochází různými procesy, které poskytují jako první HK a až poté FK. Tento způsob je doložen Waksmanovou ligninovou teorií. Za předpokladu, že HL představují systém polymerů, výchozím produktem by byly HK, další oxidací, fragmentací a rozpadem by vznikly FK [30].

Waksman podal několik argumentů, aby podpořil ligninovou teorii:

- lignin i HK jsou se značnými problémy rozkládány velkou většinou hub a bakterií,
- lignin i HK jsou částečně rozpustné v alkoholu a pyridinu,
- lignin i HK jsou rozpustné v zásadách a srážejí se v přítomnosti kyselin,
- lignin i HK mají kyselý charakter,
- pokud se ligniny zahřejí v alkalickém prostředí, přemění se na HK obsahující OCH_3 skupiny,
- HK mají podobné vlastnosti jako oxidované ligniny.

Lignin není příliš snadno rozložitelný mikroorganismy oproti jiným rostlinným složkám, nicméně existují v přírodě mechanismy, kterými se úplně aerobně rozloží. V případě, že by tomu tak nebylo, nerozložené zbytky rostlin by se hromadily při půdním povrchu a organické látky obsažené v půdě by se koncentrovaly, dokud by se nevyčerpal všechny oxid uhličitý z atmosféry.

V normálně aerobních půdách může být lignin rozkládán na produkty, které mají nízkou molekulovou hmotnost před syntézou humusu. Ligninová teorie pravděpodobně převládá při tvorbě humusu z rašeliny, jezerních sedimentů, špatně odvodněných půd a mokřích sedimentů [29].

Polyfenolová teorie

Tato teorie v sobě zahrnuje opět důležitou roli ligninu v humusové syntéze. Fenolické aldehydy a kyseliny uvolněné z ligninu přes působení mikroorganismů prochází enzymatickou přeměnou na chinony vznikající oxidací fenolů. Chinony mají porušený aromatický kruh a polymerizují (například i v přítomnosti aminosloučenin) za vzniku huminových molekul.

Patří zde i způsob vzniku HL, kdy jsou polyfenoly syntetizovány z neligninových zdrojů uhlíku – celulózy. Během reakcí zahrnující chinony je velice známým jevem tvorba látek hnědé barvy, který se uskutečňuje při tvorbě melaninu. Děje se tak např. v mechanicky poškozené dužině zralého ovoce.

Za zdroje fenolů pro syntézu humusu považujeme lignin, mikroorganismy, elementární fenoly v rostlinách a třísloviny, z nichž nejdůležitější jsou první dva zdroje.

Flaigův koncept vzniku humusu

Lignin, uvolněný z celulózy při rozkladu rostlinných zbytků, je oxidačně štěpen za vzniku primárních strukturních jednotek (deriváty fenylypropanu). Vedlejší řetězce stavebních jednotek ligninu jsou oxidovány, dochází k demethylaci a výsledné polyfenoly jsou přeměněny na chinony pomocí enzymu zvaného polyfenoloxidáza. Chinony vzniklé z ligninu (popřípadě jiných zdrojů) reagují se sloučeninami obsahujícími dusík a vytvoří tmavě zabarvené polymery.

Roli mikroorganismů jakožto zdrojů polyfenolů objasnila Kononova, která došla k závěru, že HL vznikly díky mykobakteriím rozkládajících celulózu, před rozkladem ligninu [32].

Kondenzace sacharidů s aminy

Poslední možností vzniku HL je kondenzace aminosloučenin s redukujícími sacharidy. Polymerizací redukujících sacharidů a aminů bez přítomnosti enzymů vznikají dusíkaté polymery. Hlavním argumentem proti této teorii je, že reakce probíhá poměrně pomalu při teplotách za normálních půdních podmínek. Avšak, časté změny v půdním prostředí jako je chlad, tání, vlhko, sucho, společně s tím, jak se reaktanty mísí s minerálním materiálem, má katalytické vlastnosti, které mohou kondenzaci urychlit. Pozitivním argumentem teorie je, že reaktanty jsou syntetizovány ve velkém množství prostřednictvím mikroorganismů.

Při kondenzaci sacharidů s aminy nejprve dochází k adici aminu na aldehydickou skupinu sacharidu, kdy vzniká *N* - substituovaný glykosylamin, který se následně rozkládá za tvorby *N* - substituované 1 – aminodeoxy – 2 – ketosy.

To je podmíněno fragmentací a vznikem 3-uhlíkového řetězce aldehydů a ketonů (diacetyl), dále dehydratací a formací reduktonů a hydroxylmethyl furfuralů. Tyto reaktivní sloučeniny v přítomnosti aminosloučenin ochotně polymerují za tvorby hnědě zbarvených produktů [29, 30, 31].

2.2.4 Reaktivita huminových látek

Ve struktuře HK je mnoho funkčních skupin, které reagují s různými látkami v prostředí, zejména pak s radionuklidy, těžkými kovovými ionty a toxickými organickými látkami. Abychom mohli toto vzájemné působení popsat, musíme znát vazebné interakce těchto látek s příslušnými substancemi. Pravděpodobné vazebné interakce můžeme odvodit pomocí známých struktur a některých dalších vlastností HL. Na základě dostupných informací o HL. Předpokládáme několik typů vazebných interakcí mezi HL a cizorodými látkami [33, 34].

Hydrofobní interakce

Tyto interakce vznikají při kontaktu nepolárních skupin molekul, které se vyskytují ve vodném roztoku, kdy tyto interakce mohou např. vycházet z působení Van de Walsových sil nebo přesunu π elektronů. Hydrofobní interakce jsou nejčastěji předpokládanou vazebnou interakcí HL s hydrofobními a alifatickými látkami.

Iontová vazba

Působením elektrostatických sil mezi fixními náboji přítomných funkčních skupin a ionty, vyskytujícími se v roztoku vzniká iontová vazba. Vznik elektrostatické vazby se dá u HL předpokládat např. v případě alkalických kovů a amoniaku.

Koordinační vazba

Koordinační vazba mezi makromolekulami HL a ionty kovů schopných tento typ vazeb vytvářet je nejdůležitějším typem vazebné interakce z hlediska imobilizace těžkých kovů. Potenciál ke vzniku koordinačních vazeb je zde dán značným zastoupením karboxylových, fenolických a dalších funkčních skupin ve struktuře HL.

Tvorba vazeb mezi kovy a HK je také značně ovlivňována hodnotou pH a tím i mírou disociace těchto funkčních skupin. Ve slabě kyselé oblasti se na vzniku koordinačních vazeb podílí hlavně karboxylové skupiny, při pH vyšším než 7 a po disociaci protonu z fenolického hydroxylu se přidávají významně i fenolické funkční skupiny. Stabilita vznikajících komplexů se vzrůstem pH stoupá, a to zejména u těch iontů (např. Cu^{2+} , Ni^{2+}), které tvoří silně karboxylát-fenolické komplexy.

Kovalentní vazba

Může vznikat nekatalyticky nebo katalyticky s využitím aktivity enzymů. Možnost vzniku kovalentní vazby mezi makromolekulární strukturou HL a těžkým kovem je z praktického hlediska předpokladem pro imobilizaci kontaminantu. V této souvislosti je důležité, jestli proces vůči vzniku kovalentní vazby můžeme považovat za reverzibilní nebo ireverzibilní.

Vodíkové můstky

Vznik vodíkových můstků můžeme předpokládat na základě prokázané přítomnosti některých funkčních skupin (amidová, laktámová, nitrilová). Vodíkové můstky se i přes svůj nízký energetický obsah mohou značně podílet na vazebných schopnostech mezi HL

a kontaminanty díky jejich vysoké četnosti. Uplatňují se např. pro iminoskupiny v molekulách herbicidů [33, 35].

2.2.5 Struktura huminových látek

Obecně lze znalosti o struktuře těchto látek označit jednoznačně za nedostačující. HL není možné popsat jedním obecným strukturním vzorcem, protože jsou to různorodé směsi sloučenin. Znalost stavebních složek HL a vztahů mezi těmito složkami je důležitější, protože je jimi dána biologická funkce těchto látek.

Prvkové složení huminových látek

Obsah prvků v huminových látkách závisí na druhu půdy, ze které jsou tyto látky izolovány. Hlavními prvky obsaženými v HL jsou uhlík a kyslík. Doplnějí je prvky jako dusík, síra, fosfor aj. Obsah uhlíku se pohybuje okolo 50 hmot. %.

V případě fulvinových kyselin má obsah kyslíku hodnotu přibližně 45 hmot. % za současného nižšího obsahu uhlíku (45 hmot. %). V menším množství je potom obsažen vodík, dusík, síra a fosfor.

V praxi se prvkové složení často udává v poměrech H/C a O/C. Tyto poměry jsou považovány za kvalitativní indikátor HL a také umožňují odhadnout zastoupení funkčních skupin v molekule. Nižší hodnoty poměru O/C a H/C můžou znamenat vyšší zastoupení kyslíkatých funkčních skupin (např. $-\text{COOH}$) a cukerných složek, dále naznačují vyšší příspěvek alifatických složek v molekule.

Z hlediska funkčních skupin u HK připadá větší část kyslíku na chinon než na karboxylové, karbonylové a hydroxylové skupiny. U FK naopak připadá více kyslíku na ketonické skupiny. Významným rozdílem je, že téměř všechen vázaný kyslík ve FK je obsažen ve funkčních skupinách. Naproti tomu u HK je většina kyslíku součástí hlavního jádra makromolekul [35].

Funkční skupiny huminových látek

Hlavními funkčními skupinami v HK a FK jsou karboxylové a fenolické OH skupiny. Alkoholové OH a karbonylové C=O skupiny jsou také hojně obsaženy, ale methoxylové (OCH₃) skupiny se nacházejí v menších množstvích. Celková kyselost, zejména obsah skupiny COOH, a obsah alkoholové OH skupiny ve FK jsou znatelně vyšší než u HK. Jak HK, tak i FK obsahují přibližně stejné koncentrace fenolických i methoxylových skupin. Avšak obsah karbonylových skupin se výrazně mění, zejména v případě HK.

Schnitzer a Desjardins v roce 1966 zjistili, že během tvoření humusu se obsah COOH a C=O skupin zvyšuje, zatímco obsah fenolických, alkoholových OH a OCH₃ skupin klesá [36].

Interakce s minerály

Ve skutečnosti velmi malou část HL najdeme v přírodě ve volné formě, drtivá většina je vázaná na minerální složku půdy. Na základě toho faktu lze identifikovat několik skupin sloučenin se kterými HL v půdě interagují:

- A) Soli nízkomolekulárních kovů a kovů alkalických zemin
Vznikají reakcemi organických kyselin (octová, šťavelová, mléčná) s minerály nebo solemi minerálních kyselin s vápenatými a draselnými ionty.
- B) Soli alkalických kovů a kovů alkalických zemin
Rozlišujeme soli jako humáty (tj. soli huminových kyselin) a fulváty (tj. soli fulvinových kyselin). Vznikají reakcí alkalických kationtů (Na⁺, K⁺, Ca²⁺) s karboxylovými skupinami na HL.
- C) Komplexy s kovy
Reakce s kovy je založena na interakci donor-akceptor, kde donor představují funkční skupiny HL a akceptorem je kov. Charakteristické pro takovou interakci je kruhové uspořádání, kdy „ramena“ kruhu tvoří kyslíkaté funkční skupiny HL.
Afinita funkčních skupin HL k tvorbě interakce klesá v následujícím pořadí:

Enolát	>	amin	>	azo	>	karboxylát	>	ether	>	karbonyl
–O [–]	>	–NH ₂	>	–N=N–	>	–COO [–]	>	–O–	>	C=O
- D) Organické komplexy s jíly
Interakce HL s jíly má dopad na změny fyzikálních, chemických i biologických vlastností půdní matrice. Svou roli zde zastupují, jak Van der Waalsovy síly, tak i vodíkové a kationtové můstky a v neposlední řadě i adsorpce HL do jílovitých pórů. Poslední zmíněná interakce se zpravidla uskutečňuje pouze s nízkomolekulárními HL, podle třídění nazývané jako fulvinové kyseliny [35, 36].

2.3 Anorganická frakce půdy

Mezi anorganickou frakci spadá celá řada minerálů, která se v půdě přirozeně vyskytuje. Procentuálně zastupují asi 95 % z tuhé fáze půdy. Převažují jílovité minerály (až 75 %), oxidy a hydroxidy (10 %) a primární minerály (7 %).

Jílovité minerály se dělí do tří skupin. První skupina montmorillonitu tvoří půdy se značnou sorpcí pro živiny a vodu. Převažuje v půdách černozemního typu. Naproti tomu kaolinická skupina tvoří těžko obdělávatelné a slabě vzdušné půdy se slabou sorpční schopností. Typickým zástupcem jsou podzolové půdy. Illity jsou přechodným typem mezi těmito dvěma skupinami. Nemají konstantní složení a úrodnosti jsou mezi montmorillonity a kaolinity.

Oxidy a hydroxidy vznikají zvětráváním primárních minerálů (křemen, živec, slída atd.) nebo mineralizací organických zbytků v půdě. Uplatňují se hlavně ve fyzikálně-chemických vlastnostech půdy. Důležitou vlastností je jejich schopnost poutat živiny do forem přijatelných pro rostliny. Hlavní zastoupení zde mají hydratované hydroxidy železa, hliníku a křemíku.

Primární minerály se v půdě nacházejí ve formě větších částic (štěrk, písek). Jejich okamžitý vliv na výživu rostlin je zanedbatelný, ovšem zanedbatelná je jejich funkce opory pro rostliny. V širším časovém horizontu jsou zásobárnou mikroelementů jako fosfor, mangan, síra aj [37].

2.3.1 Prvky v půdě

Prvky v zemské kůře se dělí na makroelementy a mikroelementy. Makroelementy se vyskytují v hojném množství oproti mikroelementům, které bývají zpravidla ve stopových množstvích. Mikroelementy se dále dělí na esenciální (s biochemickým významem) a neesenciální (biochemicky zatím neznámé). Esenciální prvky v jejich přirozené chemické formě jsou shrnuty v tabulce 6.

Tabulka 6: Mikroelementy

Esenciální prvky	Chemická forma	Neesenciální prvky	Chemická forma
Bor	H_3BO_4	Hliník	Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$
Chlor	Cl^-	Kadmium	Cd^{2+}
Měď	Cu^{2+}	Kobalt	Co^{2+}
Železo	Fe^{2+} , Fe^{3+}	Olovo	Pb^{2+}
Mangan	Mn^{2+}	Rtut	Hg^{2+}
Molybden	MoO_4^{2+}	Nikl	Ni^{2+}
Síra	SO_4^{2-}	Selen	SeO_4^{2-}
Zinek	Zn^{2+}	Křemík	SiO_2

Tabulka 7 udává průměrný procentuální obsah prvků v půdě. Vysoké zastoupení kyslíku a křemíku lze jednoduše vysvětlit tím, že většina půdy je tvořena křemičitany.

Tabulka 7: Půdní prvky

Prvek	hm. %	Prvek	hm. %	Prvek	hm. %
O	49,0	K	1,8	N	0,2
Si	33,0	C	1,4	P	0,08
Al	6,7	Na	1,1	Mn	0,08
Fe	3,2	Mg	0,8	S	0,04
Ca	2,0	Ti	0,5	Cu	0,002

Stejně tak jako mikroelementy, se i makroelementy nevyskytují jako čistá chemická individua, ale mají preferované určité chemické formy, které jsou shrnuty v tabulce 8.

Tabulka 8: Chemická forma prvků v půdě

Prvek	Chemická forma
Draslík	K^+
Dusík	NO_3^- , NH_4^+
Fosfor	$H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}
Hořčík	Mg^{2+}
Kyslík	O^{2-} , OH^-
Sodík	Na^+
Uhlík	HCO_3^- , CO_3^{2-}
Vápník	Ca^{2+}
Vodík	H^+

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Počátky zkoumání gelových struktur izolovaných z vysušené půdy pomocí různých tlaků vody se datují do roku 1966. Jednoduchý experiment přivedl dvojici autorů k materiálu, který tvořil souvislou vrstvu na hladině a vydržel na ní několik dní [26].

První experimenty, které provedli byli zcela logické, podívali se na vzniklý film na hladině pomocí mikroskopu, další krok směřoval na chemické složení, když je tento gel tvořen v půdě, tak musí mít zákonitě podobné složení. Pomocí rentgenové difrakce zjistili obsah a velikost jílovitých minerálů, a mysleli si, že se gel uvolňuje při rozrušení půdy sušením a následným navlhčením se zachycuje na rozhraní voda–vzduch a rozptýlí ho síly povrchového napětí. Předpokládali, že postup izolace není v přírodě obvyklý a že OMG tedy v přírodě nelze spatřit jako samostatný objekt a touto myšlenkou ukončili jeho další zkoumání [26].

Dlouhou dobu nebylo na tento objev navázáno až teprve po přelomu tisíciletí se skupina profesora Fedotova pustila do zkoumání této zajímavé části půdy. Směr jejich bádání je dodnes zaměřen spíše na strukturu gelu a specifikaci jeho minerální složky. Důležitým poznatkem uvedeným v [44] je, že organominerální gel může být izolován z kterékoliv půdy i půdního horizontu, nezávisí tedy přímo na půdní vegetaci. Stejně tak bylo dokázáno, že půdní gel se neuvolňuje pouze z povrchu částic, které jsou lokalizované na externích vrstvách půdních agregátů. Tento fakt poskytl jednoduchý experiment, na povrch částic se nanasla hydrofobní látka, která zabránila uvolňování gelu z povrchu.

Studováním cyklu sušení a namáčení půdy z hlediska koloidně-chemického směru se zabývá reference [45]. Ukázalo se, že gelová a obecně půdní struktura je soudržná díky hydrofilním vazbám v suchém stavu a hydrofobním vazbám v hydratovaném stavu. Hlubší studium změn povrchového napětí v závislosti na pH ukázalo ne-monotónní průběh, a to potvrzuje strukturálně přechodný efekt, který na tyto veličiny působí. Částice, v dehydratovaném stavu, také vykazují zvýšenou odolnost proti vyschnutí, která je opět vysvětlena strukturální změnou v půdě během sušení. Pomocí rotační viskozimetrie bylo objeveno, že smykové napětí v závislosti na čase opět není monotónní a data vykazují spíše oscilační charakter. Tento efekt byl vysvětlen pomocí možného pohybu organické matrice. Koncept strukturální změny organické matrice půdních gelů během procesu hydratace a sušení eliminuje stávající rozpory o vazebné energii vody v půdě [45].

Problematiku vody v půdě lze shrnout jednoduše: půda si zachovává určitý podíl vody, kterou nelze vysušit. Důvodem jsou změny v organické matrici, která pravděpodobně enkapsuluje vodu v půdních částech a znemožňuje její další vypařování. Shrneme-li výše uvedené údaje, tak naznačují, že půdní gelový povrch s navázanými půdními částicemi má vrstevnatou strukturu.

Byla určena tloušťka gelu na přibližnou hodnotu 0,5 μm . Tato hodnota je pouze orientační, protože gel ve své struktuře obsahuje minerální částice s různou velikostí, a tak se tloušťka gelu patrně mění v závislost na skladbě a velikosti obsažených minerálů. Uvažují že, organická frakce gelu je nejspíše lokalizovaná na povrchu těchto částic. Předpokládá se, že gel nemá

uniformní tvar, ale je složen z mnoha na sebe naskládaných tenkých vrstev. Tyto vrstvy jsou patrně tvořeny převážně jílovitými minerály.

Pro studium struktury OMG byla použita metoda transmisní elektronové mikroskopie (TEM). Ta jako jediná vnáší světlo do mechanismu formování OMG. Jílové částice jsou uspořádané tak, že jejich bazální roviny jsou paralelní s hladinou. Při sušení vzniká v gelu mechanické pnutí, které zapříčiňuje roztrhání gelu. Při tvoření těchto ploch OMG hrají velkou roli právě jílové částice, které určují směr, jakým se daná plocha bude ubírat. Dalším výsledkem sušení je i dezintegrace organické matrice, která je za hydratovaného stavu zcela neporušená, v tomto případě tvoří vrstvy.

Vykonané experimenty vedou k několika závěrům:

- OMG odpovídá na mechanické napětí jako pevná látka.
- OMG se nadále separuje z půdy i po několikáté izolaci.
- OMG se nezachytává na povrch alkoholu, ale zachytává se na povrchově aktivní látky.
- Při přidavku heptanu ihned po vyvolání gel vyvstane na povrch heptanu.
- Po 12 – 15 hodinách, kdy se gel ponechal na hladině se změní vlastnosti gelu a začíná být jako pravý gel a začíná reagovat elasticky na mechanické zatížení.
- Pokud se heptan přidá až po 12 – 15 hodinách, tak se gel neoddělí od vodní hladiny, ale naopak zůstává na rozhraní heptan-voda.

Vysvětlení proč se po několika hodinách gel nepřesouvá z vodní vrstvy do heptanu je následující. Po delším časovém intervalu se některé části humusových látek rozpustí. To změní vlastnosti gelu, především rozpustnost organické frakce. Stejně tak můžeme vyvodit důvod, že gel, který vystoupí na hladinu není složen pouze z fragmentů formovaných při sušení, ale i gelových vrstev které vyvolává přítomnost vody.

Fakt, že propojené gelové vrstvy ztrácejí stabilitu ve vzduchem usušené půdě může být vysvětlena interakcí mezi nabobtnanou externí a nenabobtnalou vnitřní vrstvou. Při zamyšlení nad mechanismem separace gelu, můžeme vyvodit, že na vodní hladinu jsou uvolněny především nejvíce hydrofilní vrstvy. Nízká hustota vrstev hraje pouze vedlejší roli při procesu separace gelu na hladinu, a hlavním motorem je vysoká povrchová aktivita.

V další referenci [42] byla použita metoda mikroskopie atomárních sil (Atomic Force Microscopy, AFM). Zde zkoumali možné závislosti ve složení půdy a vytvořeného gelu. Byly použity dvě půdy s diametrálně odlišnou skladbou, černozem a podzolová půda.

Mezi výsledky je velký rozdíl, který nejspíše tkví ve strukturním složení OMG. Pro podzolovou půdu můžeme usuzovat slabší soudržnost gelu a jeho vyšší potenciální mobilitu. Naproti tomu v černozemi soudržnost gelu stoupá se zvyšujícím se procentem humusu. Tyto výsledky korespondují s již uskutečněnými experimenty. Z tohoto zkoumání vyplývá, že minerální složku gelu k sobě poutá organická frakce – pravděpodobně huminové látky. Nejspíše také tvoří organickou matici, ke které jsou připoutány minerály a další složky tvořící OMG.

Další oblast, ve které skupina prof. Fedotova získává informace je rozklad půdních makroagregátů. Kde uvažují, že tyto agregáty jsou obaleny a poutány k sobě organominerálním gelem. Byl studován vliv centrifugace na půdní makroagregáty a specifikace centrifugace a podrobné výsledky jsou uvedeny v referenci [41]. Celkově lze říci, že pro různé typy půd jsou různé výsledky centrifugace, rozdíly patrně tvoří různá struktura a složení půd. Ovšem souhrnně výsledky ukazují, že komplexní vztahy pozorované se zvyšující se odstředivou rychlostí a času centrifugace, mohou být vysvětleny heterogenitou mikro a submikročástic a jejich schopností degradace na frakce, které mohou mezi sebou interagovat jako odpověď na mechanické jevy.

V referenci [43] je řešen druhý směr, a to teplotní degradace půdních makroagregátů. V úvodu je naznačeno, že degradace může být sledována dvěma směry. První sleduje změnu agregátů při vystavení půdy vodě a druhý způsob se zakládá na měření změny fyzikální vlastnosti v závislosti na stupni degradaci. Degradaci, jako jev, vysvětlují jako jednoduché porušení struktury makroagregátů tzn. rozpad na mikroagregáty, což je potažmo interpretováno jako rozpad organické matrice OMG.

Degradace probíhala za různých teplot a podléhá kinetické rovnici nultého řádu. Autoři dále vynesly do grafu aktivační energii, přičemž zjistili, že nepřímo závisí na velikosti agregátu. Celý experiment degradace shrnuli v názoru, že zde existuje určitý stabilizační faktor, který je mechanismem velmi podobný povrchovému napětí, které je vysvětleno jako tenkým pružným filmem na povrchu molekul.

Výsledek směřuje opět k existenci gelu, který poutá agregáty k sobě. Uvažují, že tento gel by mohl být mobilní a přesouvat se na povrch agregátů společně s vodou, a dokonce by mohl být zafixován na povrchu agregátů. To naznačuje, že po několika cyklech sušení a namáčení by se koncentrace gelu na povrchu mohla rapidně zvýšit i přesto, že by velikost a tvar agregátů zůstali nezměněné.

Pro ověření tohoto faktu navrhli pokus, při kterém by právě do povrchové vrstvy zavedli luminofor a provedli několik namáčecích/sušících cyklů. Bylo zjištěno že pouze několik částic luminoforu bylo nalezeno uvnitř agregátu, ale většina byla na povrchu. Z toho plyne že půdní agregáty jsou velmi stabilní a mohou být opravdu stabilizovány vyšší koncentrací organominerálního gelu. Zároveň potvrdili prvotní myšlenku, že po několika namáčecích/sušících cyklech se zvyšuje koncentrace gelu na povrchu částic.

Přínos tohoto článku lze shrnout tak, že půdní agregáty jsou nehomogenní, autonomní elementy, jejichž voděodolnost závisí na existenci povrchové vrstvy složené z organominerálního gelu [43].

Následuje množství experimentů zaměřených na chemickou skladbu gelu. V půdě je široké spektrum prvků, jejichž obsahy se mění například podle hloubky odběru půdy, podle druhu půdy atd. První důležitý poznatek pochází z reference [38]. Bylo zjištěno, že rozmístění železa v půdním gelu je vcelku uniformní. Dalším záměrem bylo zjistit poměr výskytu těžkých kovů v gelu a půdě a odhalit tak možnou funkci imobilizátora těchto kovů v OMG. Z výsledků plyne že obsah kovů v půdě je mnohem nižší než v gelu, a to v řádech desítek až stovek miligramů. Nesmíme přitom opomenout, že obsah gelu v půdě je téměř zanedbatelný. Je známo, že

humínové látky mají vysokou afinitu k těžkým kovům, logicky se uvažuje jejich obsah v OMG [39].

Skenování půdních agregátů pomocí Electron Probe Microscopy Analyzer (EPMA) neprokázalo rozdíly v chemické skladbě a neověřilo existenci mikroagregátů s rozdílnou elementární skladbou. Doposud zveřejněné experimentální výsledky poukazují na existenci několika typů půdních gelů v půdě, ovšem podstata těchto gelů je univerzální napříč všemi typy půd. Dále uvažují, že OMG má mozaickou strukturu, kvůli jejich uspořádání na různých minerálech, to znamená uspořádání na částicích s různou kohézní silou. Původ heterogenity zatím není vysvětlen.

Další práce navazuje studiem minerálních částic (hrubozrnné a jemnozrnné) pomocí EPMA za účelem získání chemické kompozice vyjádřené pomocí hmotnostních procent a atomového zastoupení. Vzorky byly analyzovány pro majoritní oxidy: SiO_2 , Al_2O_3 , Na_2O , MgO , K_2O , CaO , Fe_2O_3 , a pro minoritní oxidy: P_2O_5 , TiO_2 a SO_3 . V tomto měření ovšem není zahrnuto procentuální zastoupení hydrogenovaných iontů, hydroxidů fluoru a boru, které není možné pomocí EPMA zanalyzovat. Analýza ukázala, že pro gely z černozemě, podzolové půdy a lesní půdy jsou majoritními minerály křemíkové, živcové a jílovité. Pro černozem je ovšem obsah křemíku dvojnásobně nižší než u půdy podzolové [40]. Závěr není překvapivý, gel ve své podstatě pochází z půdy a obsah minerálů v jeho struktuře to potvrzuje. To ovšem na druhou stranu dává informaci o tom, že při různém složení půdy, musí mít i gel zákonitě různé minerální složení. Pravděpodobně je tato složka gelu variabilní, a musí být vyvážená druhou částí gelu – organickou.

Zajímavá vlastnost OMG je jeho schopnost navázání a patrně i imobilizace kovů do své struktury, především pak těžkých kovů. Následující tabulka 9 přehledně shrnuje obsahy vybraných prvků v půdě (vrchní hodnota) oproti obsahu v půdním gelu (spodní hodnota). U několika prvků, jsou zde velmi podobné, až téměř charakteristické rysy. Například měď má obsah v gramu půdního gelu 726 mikrogramů, ale půda v jednom gramu má obsah pouze 8,84 mikrogramů. S hloubkou sice obsah mědi v gelu kolísá, ale stále několikanásobně přesahuje hodnoty půdy. Stejnou tendenci má i kadmium a hořčík. Na pomyslné druhé pozici se vyskytuje olovo, kobalt a nikl. Přesně opačnou tendenci má jediný sledovaný prvek a to zinek. Další znak toho, že ve struktuře se pravděpodobně vyskytují humínové látky [44, 46].

Tabulka 9: Kovy v gelu a půdě [44].

Půda	Horizont	Cu (μg/g)	Zn (μg/g)	Ni (μg/g)	Co (μg/g)	Pb (μg/g)	Cd (μg/g)	Mn (μg/g)
G r a y f o r e s t	0-10	8,84	28,6	10,94	8,23	8,64	0,0014	575
		726	0,19	73,3	13,64	37,33	0,299	1352
	10-20	8,39	22,6	11,52	6,95	10,15	0,0014	567
		317	0,05	37,78	8,64	21,81	0,066	554
	30-40	8,26	24,4	10,34	5,83	7,76	0,0004	305
		857	0,26	64,33	10,37	26,01	0,441	732
	40-50	8,68	24,4	10,56	4,87	7,35	0,0005	300
		250	0,14	13,75	3,91	13,95	0,063	225
	50-60	8,34	24,4	12,1	4,77	7,88	0,0004	297
		1390	0,64	164	38,89	70,05	0,437	400

Současný stav problematiky OMG je jednoznačně záležitostí jedné vědecké skupiny. Tato skupina postupuje systematicky v popisu struktury a snaží se pomocí hypotéz řešit i vznik a rozklad OMG. Potvrzení těchto hypotéz ovšem vyžaduje mnohem komplexnější vědecký přístup. Musí se zohlednit organominerální gel ve všech jeho složkách a funkcích. Pokud je univerzálem ve všech půdách, tak musí být vysvětlena tato univerzálnost, která musí ležet na nějakém strukturním schématu. To ovšem znemožňuje jeho přirozená podstata. Sledovat OMG tzv. v „akci“ je velmi obtížné. Jediná možnost je sledování nepřímou, pomocí zavedení kontrastních látek do půdy, potažmo OMG, k tomu je zapotřebí podrobná znalost struktury a závislostí při kterých probíhají strukturní změny, a jaké jsou podněty a důsledky těchto změn.

4 POUŽITÉ MATERIÁLY A METODY

4.1 Materiály

Kmen bakterií *Cupriavidus necator H16* získaný z České sbírky mikroorganismů Masarykovy univerzity v Brně.

Nutrient Broth (složení: 10 g·l⁻¹ beef extract, 10 g·l⁻¹ pepton, 5 g·l⁻¹ NaCl, 20 g·l⁻¹ agar)

4.2 Přístroje

Termogravimetrický analyzátor TGA Q5000

Rentgenový difraktometr EMPYREA

Rastrovací elektronový mikroskop ZEISS

FT-IR spektrometr NICOLET iS50

Elemental Analyzer EURO EA

ICP optical emission spectrometer ULTIMA 2

ELISA reader Elx808 BIOTEK

5 PRAKTICKÁ ČÁST

Cílem této kapitoly je shrnout provedené experimenty do 4 logických částí. Část optimalizace izolace organominerálního gelu se věnuje specifikaci postupu izolace stejně tak jako možným vlivům použité vody a půdy pro izolaci. V dalších částech se řeší podrobnější charakterizace gelu, která je rozdělena do strukturní, chemické a mikrobiální části. U většiny rozborů se porovnávají hodnoty přečištěného a nepřečištěného vzorku, abychom zjistili vliv čištění na výsledky analýz.

5.1 Optimalizace izolace organominerálního gelu

Z uskutečněných experimentů vyplynulo, že nezbytným předpokladem pro úspěšnou izolaci půdního gelu je překročení maximální kapilární vlhkosti použitého vzorku půdy. Vzorky půdy byly odebírány z travnaté plochy, kde nebyly použity žádné hnojiva a byla celoročně porostlá trávou. Při odběru vzorků se zasahovalo maximálně 10 cm pod horizont. Sušení půdy probíhalo buď v sušárně při maximálně 45 °C, nebo volně na vzduchu (případně byly kombinovány oba postupy).

Byl ověřen postup izolace OMG nasáváním vody hlínou přes Büchnerovu nálevku. Do Büchnerovy nálevky byla vložena půda a do propojené nálevky se přiváděla voda, kterou půda kapilárně nasávala. Použitou aparaturu lze vidět na obrázku 5.



Obrázek 5: Aparatura pro izolaci gelu, kde se do Büchnerovi nálevky vkládala půda a do propojené nálevky přiváděla voda.

Dostatečnou hydrataci půdy provázela i změna barvy. Hydratace probíhala po dobu 10 minut, aby byla zajištěna plná hydratace vzorku a uvolnění maximálního možného množství gelu. Na obrázku 6 lze vidět vzorek půdy v Büchnerově nálevce, který není plně hydratován a lze si povšimnout zmíněné změny barvy.



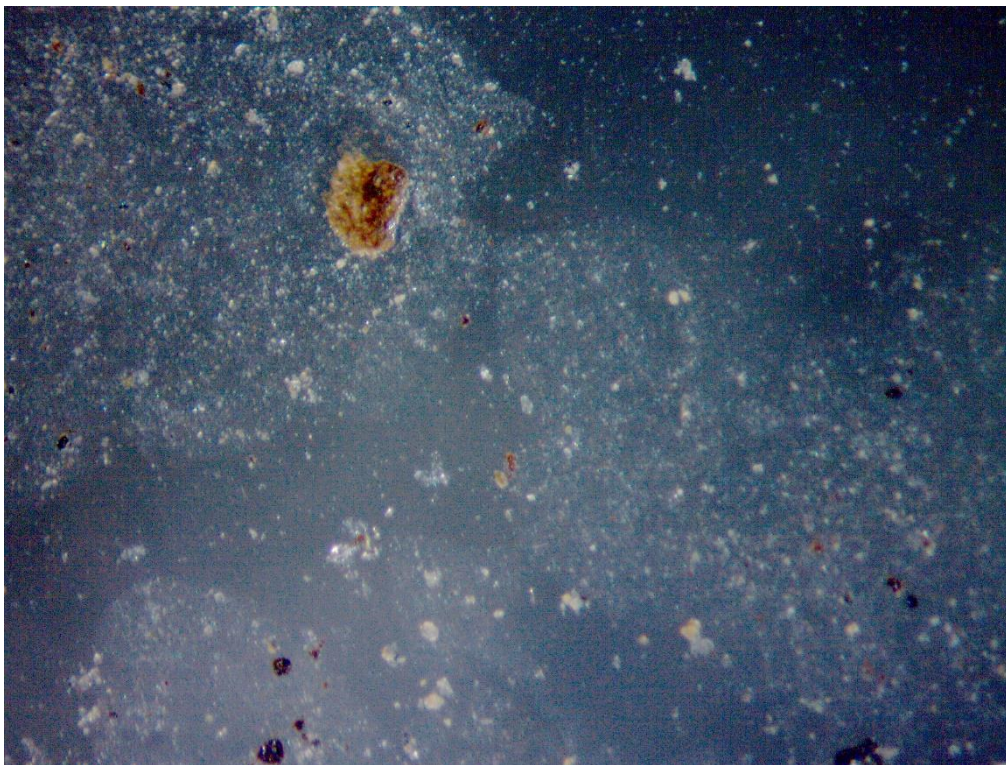
Obrázek 6: Kapilární nasávání půdy.

Po dostatečném kapilárním nasátí půdy následovalo zvýšení tlaku vody v Büchnerově nálevce tím, že do propojené nálevky bylo přivedeno velké množství vody. Tím jsme dosáhli toho, že organominerální gel vyvstal na hladině, což lze vidět na obrázku 7.



Obrázek 7: Organominerální gel vyvolaný na hladině.

Odebrání gelu bylo prováděno na podložní sklo nebo na křemenné sklo pouhým dotykem skla na hladinu vody. Důležitou inovací postupu izolace je přečištění gelu promytím malým množstvím vody ihned po odebrání gelu na podložní sklo. Tím jsme dosáhli čistějšího vzorku s velmi nízkým znečištěním částicemi, které se uvolňují z půdy během izolace. Sušení gelu probíhalo při maximální teplotě 45 °C. Sběr pro experimenty probíhal seškrábáním gelu z podložního sklíčka.



Obrázek 8: Organominerální gel v hydratované formě na hladině vody

Fotografii vyvolaného gelu na hladině lze vidět na obrázku 8 a na obrázku 9 je vidět čistý usušený organominerální gel na Petriho misce.



Obrázek 9: Usušený organominerální gel

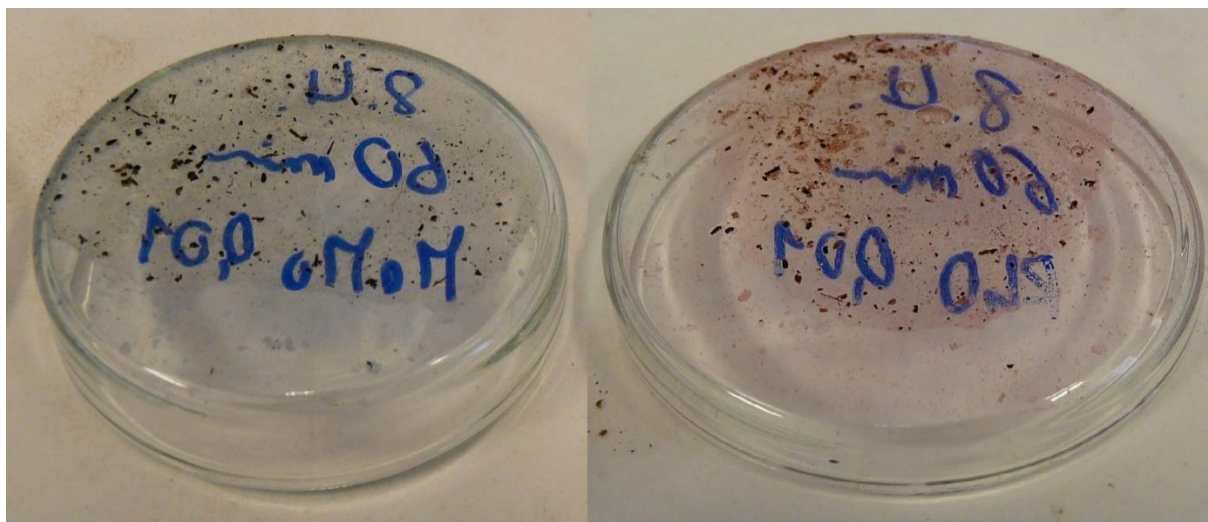
Jak bylo vizuálně ověřeno při prvních experimentálních odběrech, klíčový vliv na kvalitu a množství odebraného gelu má zdrojová půda. Konkrétní vliv vegetace a srážkové historie půdy zůstává otázkou pro podrobnější experimentální studii, nicméně jisté poznatky v této oblasti byly získány již v rámci realizovaných experimentů. Pro jeden z použitých vzorků půdy se organominerální gel podle zmíněného postupu nevytvořil. Odběr tohoto vzorku byl z oblasti bez vegetace a v období po hojných srážkách. To naznačuje, že důležitou klíčovou složkou půdních gelů by mohly být organické látky rostlinného původu, dostatečně rozpustné,

aby podléhaly srážkovému vyplavení z půdy. Každopádně, tyto vlivy budou podrobeny dalšímu zkoumání v navazující experimentální práci.

Další důkaz jeho možného vyplavení z půdy přinesl experiment, při kterém se půda podrobovala několika opakovaným cyklům izolace gelu. Nejčastěji během třetího a čtvrtého cyklu izolace se OMG na hladině nevytvořil. Z toho můžeme vyvodit, že při izolaci gelu se vyrovnává koncentrace gelu v půdních částicích a v okolní vodě. Tím dochází k postupnému vyplavování a obsah gelu by měl klesat exponenciálně s počtem izolací.

Další cenou informací poskytl pokus o obarvení gelu. Gel se barvil hydrofilními barvivými (methylenová modř, rhodamin 6G), což potvrzuje jeho očekávaný hydrofilní charakter. Fotografie z pokusu o obarvení lze vidět na obrázku 10, kde vlevo je gel obarvený methylenovou modří a vpravo rhodaminem 6G. Zajímavý byl vliv barvení na strukturu gelu – gel obarvený jakýmkoliv z obou testovaných iontových barviv měl „ostřejší“ okraje.

Byl také testován vliv kvality vody, použité pro hydrataci půdního vzorku. Kromě použití deionizované vody (systém MiliQ), byl postup opakován i s použitím vody s různou iontovou silou. Motivací k tomuto experimentu podnítili poznatky, že při použití nepřečištěné vodovodní vody měl vytvořený gel na hladině „ostřejší“ okraje. Pravděpodobně se toto „zpevnění“ děje kvůli zvýšené iontové síle roztoku, způsobené ať již přidavkem iontového barviva, nebo v důsledku rozpuštěných minerálních iontů přirozeně se vyskytujících v řádové vodě.



Obrázek 10: Barvení gelu hydrofilními barvivými, vlevo obarveno methylenovou modří, vpravo Rhodaminem 6G.

Experiment, který by ověřil vliv iontové síly obsahoval tři roztoky o různé iontové síle, 1 M, 0,5 M a 0,1 M. Pro dosažení potřebné iontové síly roztoku byl použit chlorid draselný. Ani v jednom případě se nepodařilo zjistit viditelné rozdíly v gelové struktuře, jelikož všechny gely byli stejně okrajově vymezené. Pro další izolaci byl použit roztok s iontovou silou 0,5 M. Pokud je struktura gelu ovlivněna ionty rozpuštěnými ve vodě, tak předpokládám, že postačuje velmi malé množství iontů, aby gel získal svoji „ostřejší“ strukturu.

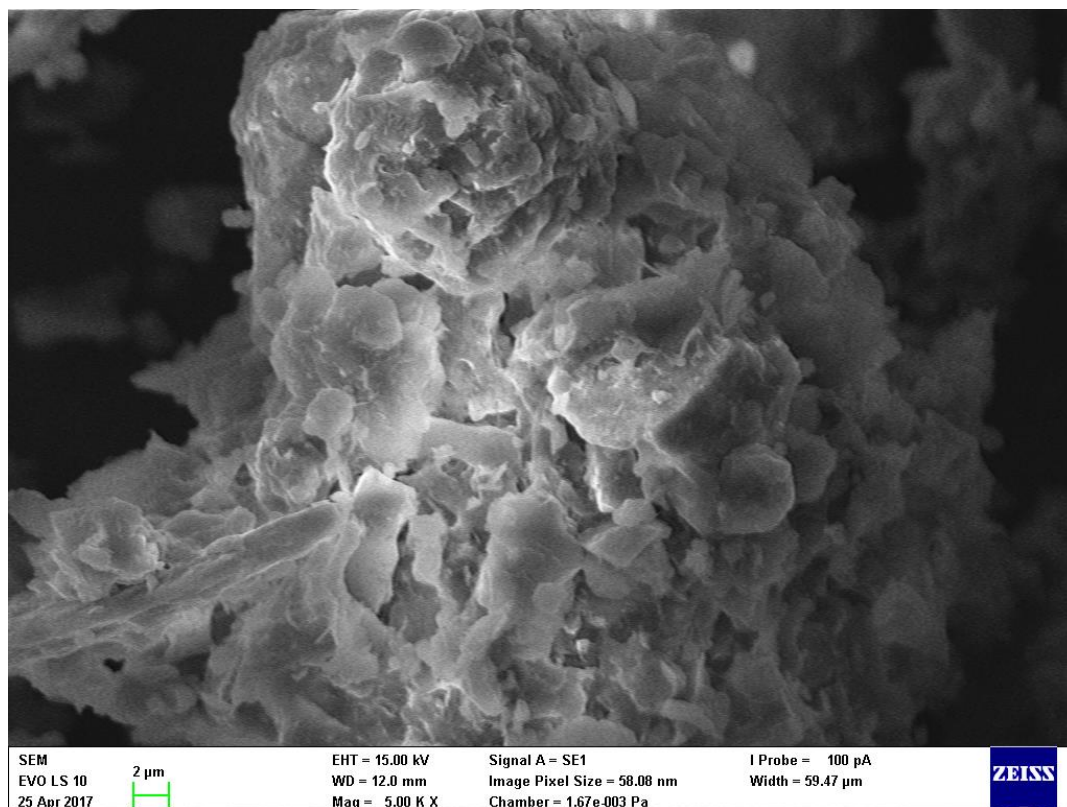
Experiment založený na metodě sítové analýzy probíhal z důvodů, že většina publikací je vybrána pouze určitá velikostní frakce půdních částic. Navrhnutý experiment měl za cíl stanovit nejvýnosnější velikostní frakci půdních částic na získání organominerálního gelu. Částice byly rozděleny na 4 frakce. U každé frakce byl postupně sbírán půdní organominerální gel vyvolaný pouze z půdních částic o dané velikosti. Ani u jedné frakce nebyl detekován rozdíl při 10 odběrech a následnou úvahou byl tento experiment ukončen s výsledkem, že velikost půdních částic nemá přínosný vliv na výnos OMG z půdy. V tabulce 10 jsou znázorněny hmotnosti frakcí po deseti odběrech půdního gelu. Na každý odběr bylo použito 140 g suché půdy.

Tabulka 10: Výtěžnost gelu z velikostních frakcí v půdě.

Frakce	Hmotnost po 10 odběrech (g)
>2mm	0,0012
2mm	0,0013
1mm	0,0014
<1mm	0,0012

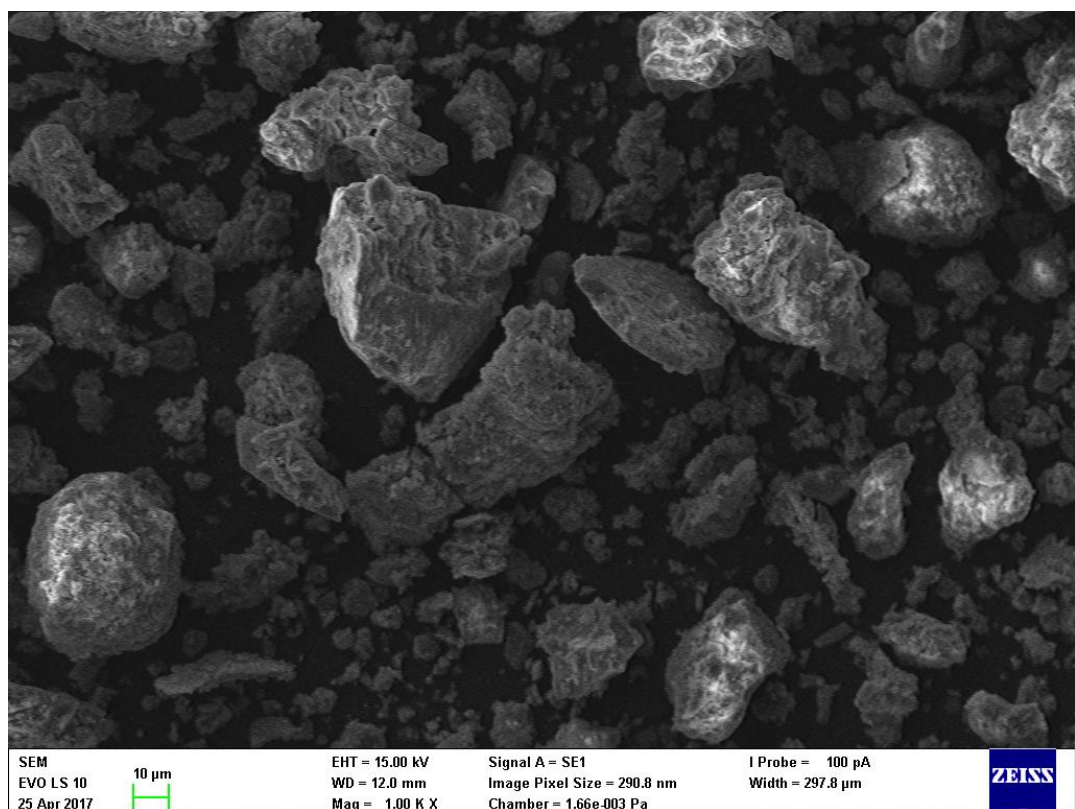
5.2 Struktura organominerálního gelu

Objasnění struktury organominerálního gelu, by mohlo dopomoci k porozumění funkce tohoto gelu v půdě. Metoda elektronové mikroskopie měla právě poskytnout informace o struktuře OMG a případně doplnit ostatní analýzy ohledně obsahu kovů v jeho struktuře.

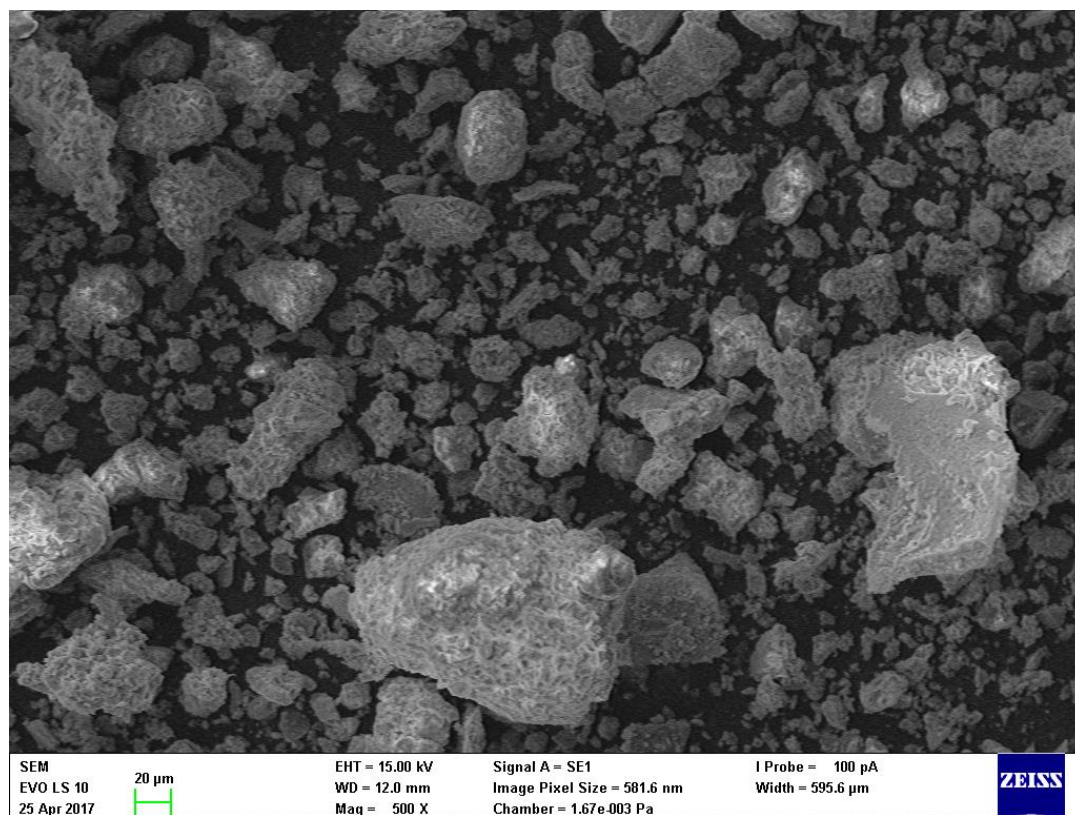


Obrázek 11: Mikrostruktura organominerálního gelu.

Na obrázku 11 lze vidět organominerální gel zvětšený 5000krát. Je patrná jeho deskovitá struktura, na které by se měli, podle doposud zveřejněných publikací, velkou měrou podílet jílovité minerály. Na dalších dvou fotografiích (obrázek 12 a obrázek 13) je vidět půdní částice obalené OMG. Je zjevné, že ve vysušeném stavu gel obaluje půdní částice a tvoří na nich vrstvu, která se skládá z různě velkých destiček.



Obrázek 12: Organominerální gel zvětšený 1000x.



Obrázek 13: Organominerální gel zvětšený 500x.

5.3 Chemické složení organominerálního gelu

Pro chemickou charakterizaci OMG byly zvoleny metody, které by měli přiblížit chemické složení nejen organické ale i anorganické části gelu. Obsah organické složky detekujeme pomocí elementární a termogravimetrické analýzy. Na zjištění obsahu minerálů v anorganické části gelu byla použita metoda rentgenové krystalografie a emisní spektrometrie. Infračervená spektrometrie by měla podat informace o vazbách ve struktuře OMG a poslední použitou metodou je opět skenovací elektronová mikroskopie, která kromě předešlé vizualizace poskytla i kvantitativní obsah prvků.

V tabulce 11 jsou zobrazeny výsledky elementární analýzy. Vyšší obsah uhlíku jako ukazatele organické hmoty byl očekávaný, při vyšší čistotě gelu se musí ve výsledcích zákonitě projevit vyšší procentuální obsah organické matrice. Pokles zbylých tří prvků není překvapivý.

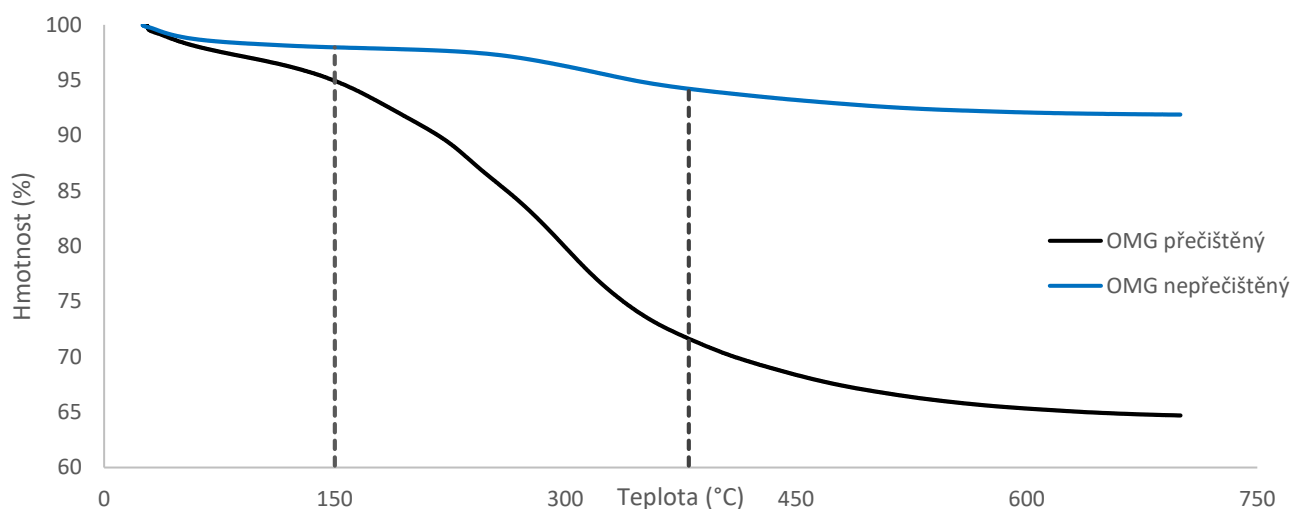
Tabulka 11: Data z elementární analýzy

Prvek	přečištěný OMG (at. %)	nepřečištěný OMG (at. %)
C	25,73	17,14
H	55,31	60,92
N	0,87	1,45
O	18,09	20,49
C/H	0,47	0,28
C/O	1,42	0,84

Poměr C/H je ukazatelem nasycenosti organických struktur. Pokud se jeho hodnota blíží nule, znamená to, že struktura obsahuje převážně jednoduché vazby. V našem případě je tento poměr 0,47 a značí to, že organická složka obsahuje jednoduché, případně dvojité vazby. Tato hodnota ovšem ani nevylučuje, že struktura může mít konjugované vazby. U nepřečištěného gelu, je tento poměr ještě nižší a tím pádem na jeden atom uhlíku připadají tři atomy vodíku, to lze vyhodnotit jako zkreslenou informaci kvůli znečištění vzorku.

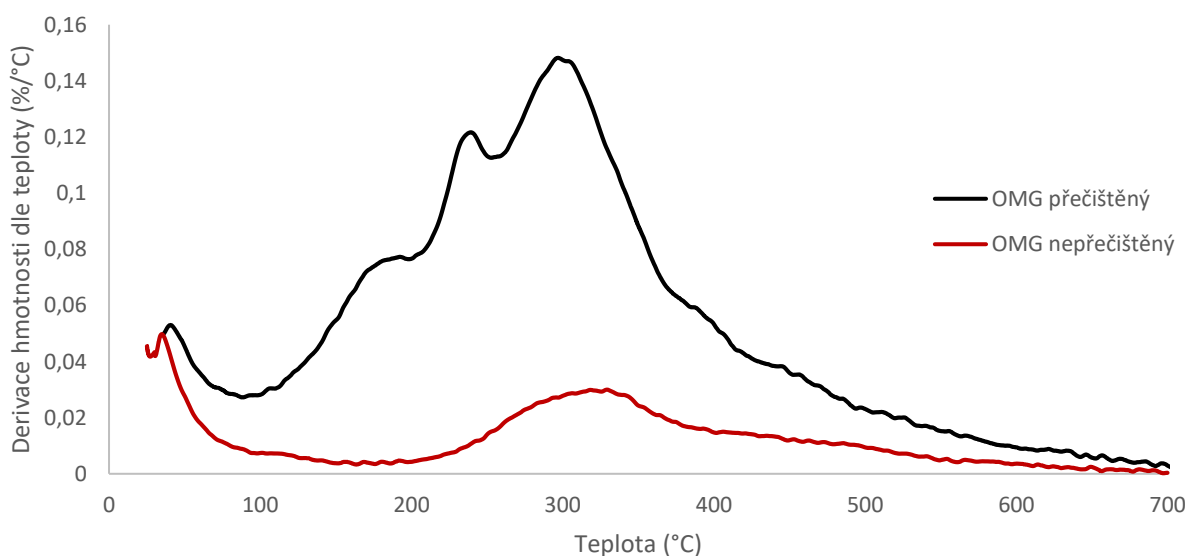
Atomový poměr uhlíku a kyslíku u nepřečištěného gelu zkresluje roli kyslíku ve struktuře. Většina kyslíku by měla připadat na funkční skupiny, ale tuto hodnotu nelze brát jako spolehlivý ukazatel. U přečištěného gelu by se hodnota poměru C/O okolo 1,4 dala považovat za věrohodnou. Tato hodnota se blíží skutečnosti, kdy na 3 atomy uhlíku přísluší 2 atomy kyslíku, který může být uložen ve formě funkčních skupin jako například karboxylové kyseliny, karbonylové skupiny anebo jako methoxy skupina. Stejně tak může být zabudován ve struktuře jako esterová nebo etherová skupina.

Abychom dokázali přibližně určit podíl nespalitelné části ve struktuře gelu, tak byla použita metoda termogravimetrické analýzy. Zde jsme opět měli možnost srovnat údaje o přečištěném a nepřečištěném gelu. V tomto případě je rozdíl nejznatelnější, především v obsahu popela. Kde přečištěný gel obsahuje pouze 64 % popela, ale nepřečištěný 92 %. Stejně rozdílný je i průběh analýzy, který je vidět na obrázku 14. Dvě svislé úsečky rozdělují graf do 3 částí. Do 150 °C zahrnujeme zbytkovou vlhkost a v přečištěném vzorku tvoří do 5 %. V nepřečištěném vzorku okolo 2 %.



Obrázek 14: Termogravimetrická analýza OMG

Prostor mezi úsečkami vymezuje oblast, nejvyššího hmotnostního úbytku gelu. Teplota, při které nastal nejvyšší hmotnostní úbytek, byla určena z grafu úbytku hmotnosti podle teploty (Obrázku 15) a náleží hodnotě okolo 295 °C. Ve třetí oblasti grafu je důležitý bod ukončení analýzy při teplotě 700 °C, hodnota tohoto bodu znázorňuje obsah popela ve vzorku.



Obrázek 15: Derivace hmotnosti dle teploty

V obrázku 15 je viditelný i druhý rozkladný pík okolo hodnoty 250 °C. To lze vyhodnotit tak, že OMG se pravděpodobně rozkládá ve 2 stupních, při 250 °C patrně degradují labilnější chemické struktury, a při 300 °C dochází k rozkladu stabilnějších struktur, případně se rozkládá celá matrice OMG. Levé rameno píku, které dosahuje maxima při 200 °C je pravděpodobně úbytek strukturálně vázané vody v OMG anebo úbytek vody z minerálních struktur. Celkový obsah organických sloučenin lze určit na 35 % hmotnosti gelu.

Anorganická část gelu je více probádaná a jsou již experimentálně stanoveny obsahy různých kovů. Přesto jsou zde mezery ve stanovení obsahu železa a dalších prvků v roztoku, který vzniká při izolaci OMG.

Metoda emisní spektrometrie slouží ke stanovení obsahu prvků ve vzorku. Její výhodou je schopnost analyzovat téměř všechny prvky periodické tabulky při udržení vysoké citlivosti. V našem vzorku byli stanoveny obsahy čtyř prvků: lithia, mědi, niklu a železa. Lithium by podle doposud zjištěných informací mělo hrát roli v soudržnosti gelu. měď jako zástupce těžkých kovů, a současně široce využívaný zástupce jako modelový kov ve spojení s huminovými látkami měl posloužit jako ukazatel afinity organominerálního gelu právě k těžkým kovům. Nikl byl vybrán na ověření afinity k těžkým kovům. Poslední prvek, který má vypovídající hodnotu o vzniklém gelu je železo, kde se předpokládá mozaikové rozložení.

Tabulka 12: Vybrané kovy v OMG, půdě a vodě

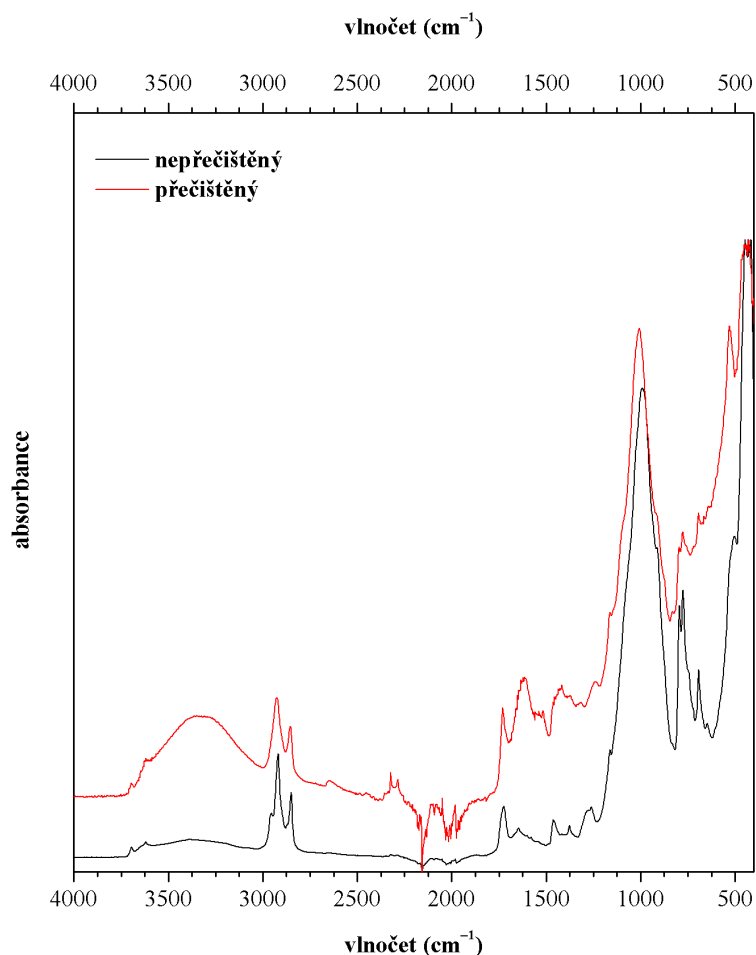
Kov	OMG (mg/g)	Půda (mg/g)	Voda (mg/l)
Cu	0,045	0,005	-
Fe	9,416	10,725	-
Ni	0,026	-	-
Li	0,014	-	0,013

Obsahy všech tří prvků se stanovovaly jak v půdě, tak gelu, i v roztoku, který vzniká při izolaci a výsledné hodnoty lze vidět v tabulce 12. Vyšší obsah mědi a niklu, v gelu, než v půdě byl očekávaný a potvrzuje předešlé úvahy. Vysoký obsah železa je dán jeho přirozeným výskytem v půdě. Jediný kov, který byl detekován v roztoku je lithium, které se podařilo naměřit i v organominerálním gelu samotném.

Tento obsah je možné odůvodnit jeho výskytem v zemské kůře, kde dosahuje koncentrací od 0,02–0,06 mg/g. Možných chemických forem lithia v gelu může být hned několik, od výskytu v solích organických sloučenin přes kryptáty až po organokovové sloučeniny. Při nižších koncentracích lithium stimuluje růst rostlin a některé rostliny ho pravděpodobně dokáží koncentrovat ve svých pletivech [47].

Oproti výsledkům uvedených v referenci [43] obsah mědi v našem vzorku je nižší. Pro srovnání obsah tohoto kovu při stejném půdním horizontu v publikaci dosahuje hodnoty 726 $\mu\text{g/g}$, v našem případě se dostáváme na hodnotu 450 $\mu\text{g/g}$. Stejný trend pozorujeme i v případě niklu, 73,3 $\mu\text{g/g}$ v publikaci a 26 $\mu\text{g/g}$ v našem vzorku. Obsah lithia je diskutabilní. Proti mědi je jeho obsah v gelu třetinový, ovšem ve vodě je měď pod detekčními limity přístroje. Z toho se dá vyvodit, že měď a nikl jsou pravděpodobně aktivně vychytávány ve struktuře gelu naproti tomu afinita gelu k lithiu je výrazně slabší. Přesto je tento prvek zajímavý právě svým obsahem v gelu a současně v roztoku.

Další použitou metodou je infračervená spektrometrie. Motivací použití této metody bylo získat informace o přítomnosti funkčních skupin především ve spojení s organickou frakcí gelu. Při měření byla použita technika zeslabeného totálního odrazu ATR a difúzní reflektanční infračervená Fourierova transformační spektroskopie DRIFT. Princip ATR metody spočívá v odrazu záření na rozhraní ATR krystalu a vzorku, kde vzorek několikanásobně absorbuje záření určité vlnové délky a tím oslabuje totálně odražené záření. Metoda DRIFT měří difúzně rozptýlené záření. ATR spektrum lze vidět na obrázku 16.



Obrázek 16: ATR spektrum nepřečištěného a přečištěného organominerálního gelu.

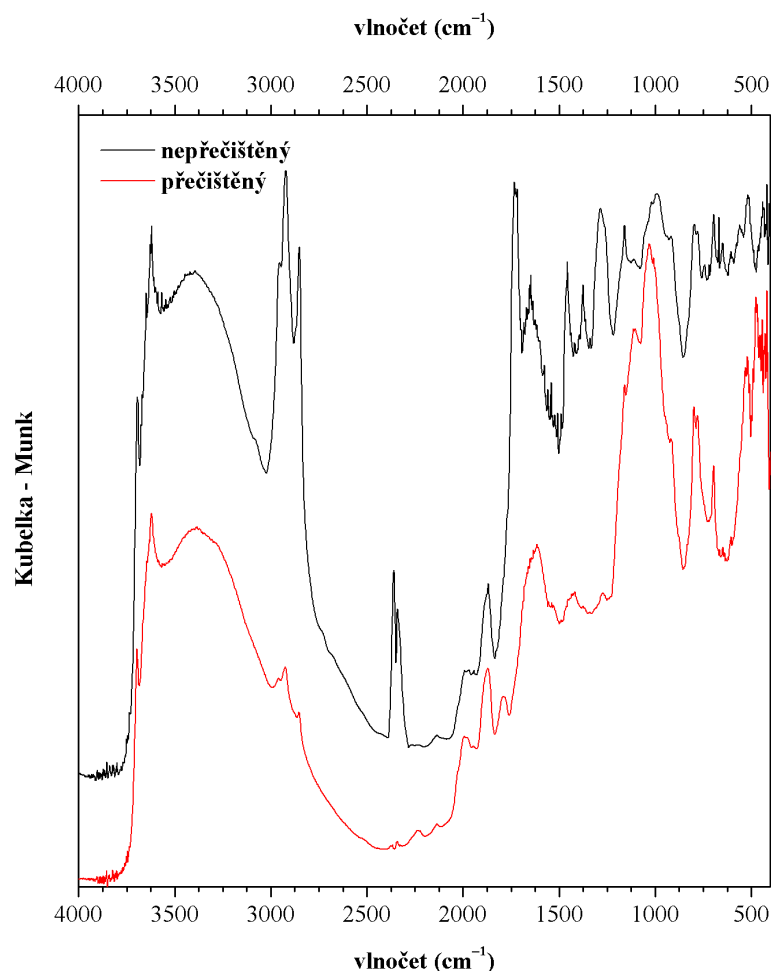
V ATR spektru přečištěného a nepřečištěného gelu, jsou patrné téměř totožné píky, ovšem s mnohem nižšími hodnotami absorpce u nepřečištěného OMG. Proto pro určení funkčních skupin je použito spektrum přečištěného vzorku.

V ATR spektru OMG je pík při vlnočtu $2\,919\text{ cm}^{-1}$ určen jako vibrace skupiny $-\text{CH}_2$, která je potvrzena absorpčním pásem v rozmezí $2\,880\text{--}2\,835\text{ cm}^{-1}$. Pík o hodnotě $2\,850\text{ cm}^{-1}$ předpovídá výskyt také skupiny $-\text{CH}_3$, která je potvrzena absorpčními při vlnočtech $1\,470\text{--}1\,385\text{ cm}^{-1}$. V oblasti od $1\,900$ až $2\,100\text{ cm}^{-1}$ nelze specifikovat žádné absorpční píky ani pásy, jelikož při těchto vlnočtech absorboval záření diamantový ATR krystal. Další analyticky významný pík má hodnotu $1\,725\text{ cm}^{-1}$ a předurčuje výskyt esterů aromatických sloučenin, což potvrzuje absorpce v rozmezí $1\,250\text{--}1\,330\text{ cm}^{-1}$. Pík o hodnotě $1\,646\text{ cm}^{-1}$ znázorňuje vibraci vazby $\text{C}=\text{C}$ případně vibraci karboxylové skupiny $\text{R}-\text{COO}^-$ nebo kombinace těchto dvou. Nejvýraznější pík ve spektru při vlnočtu 991 cm^{-1} doplňuje pík o hodnotě 914 cm^{-1} znázorňuje vibraci skupiny $\text{CH}=\text{CH}_2$, ale stejně tak při stejných vlnočtech absorbuje skupina $\text{Si}-\text{O}$. Jediný pík, který by v „otisku palce“ stojí za zhodnocení je při 694 cm^{-1} , protože takto vysoká absorpce nahrává vibraci vazby $\text{Al}-\text{O}-\text{Si}$. Vlnočty charakteristických píků a k tomu přiřazené funkční skupiny jsou shrnuty v tabulce 13.

Tabulka 13: Vlnočty ATR spektra

Vlnočet (cm^{-1})	Funkční skupina
2 920	$-\text{CH}_2$
2 850	$-\text{CH}_3$
1 726	$\text{Ar}-\text{C}=\text{O}-\text{O}-\text{R}$
1 647	$-\text{C}=\text{C}; -\text{COOH}$
991	$-\text{CH}=\text{CH}_2; \text{Si}-\text{O}$
914	
694	$\text{Al}-\text{O}-\text{Si}$

DRIFT spektrum na obrázku 17 doplňuje ATR spektrum. Ostré píky při $3\,620$ a $3\,696\text{ cm}^{-1}$ naznačují vibraci --OH skupiny z Al--OH a Si--OH struktury. Rameno při $3\,392\text{ cm}^{-1}$ je zapříčiněno hydroxylovou skupinou a taktéž se v těchto místech projevují vibrace minerálních struktur. Vibrace s hodnotou $2\,956\text{ cm}^{-1}$ náleží skupině --O--CH_3 případně skupině --C--CH_3 , které jsou potvrzeny absorpcí ve vlnočtech $2\,895\text{--}2\,840\text{ cm}^{-1}$.



Obrázek 17: DRIFT spektrum OMG

Poměrně výrazné píky s maximy při $2\,921\text{ cm}^{-1}$ a $2\,850\text{ cm}^{-1}$ připadají alifatickým skupinám (--CH_2 a --CH_3). Píky okolo vlnočtů $2\,300\text{ cm}^{-1}$ připadají na oxid uhličitý a v ATR spektru nejsou znatelné díky korekci. Skupina Al--O absorbuje při dvou vlnočtech $1\,868$ a $1\,733\text{ cm}^{-1}$. Hodnota vlnočtu $1\,718\text{ cm}^{-1}$ byla určena jako skupina --C=O . Pík při maximu $1\,646\text{ cm}^{-1}$ potvrzuje vibraci skupiny --C=C a také zastupuje antisymetrickou vibraci --COO^- . Specifický pík pro skupinu Al--O--Si je opět viditelný při vlnočtu 694 cm^{-1} .

DRIFT spektra přečištěného a nepřečištěného OMG se jako ATR spektra kvalitativně neliší. U přečištěného spektra je znatelnější vibrace alifatických skupin, a také se snížila intenzita píků v oblasti otisku palce. Toto oslabení vysvětlujeme opět čistotou, protože v této oblasti silně

absorbují vazby minerálních struktur. V tabulce 14 jsou shrnuty analyticky významné píky DRIFT spektra a k nim určené nejpravděpodobnější funkční skupiny.

Tabulka 14: Vlnočty píku v DRIFT spektru OMG

Vlnočet (cm^{-1})	Funkční skupina
3 695	Al-OH; Si-OH
3 620	
3 392	-OH
2 956	-O-CH ₃ ; -C-CH ₃
2 922	-CH ₂
2 850	-CH ₃
1 869	Al-O
1 734	
1 718	-C=O
1 647	-C=C; -COOH
694	Al-O-Si

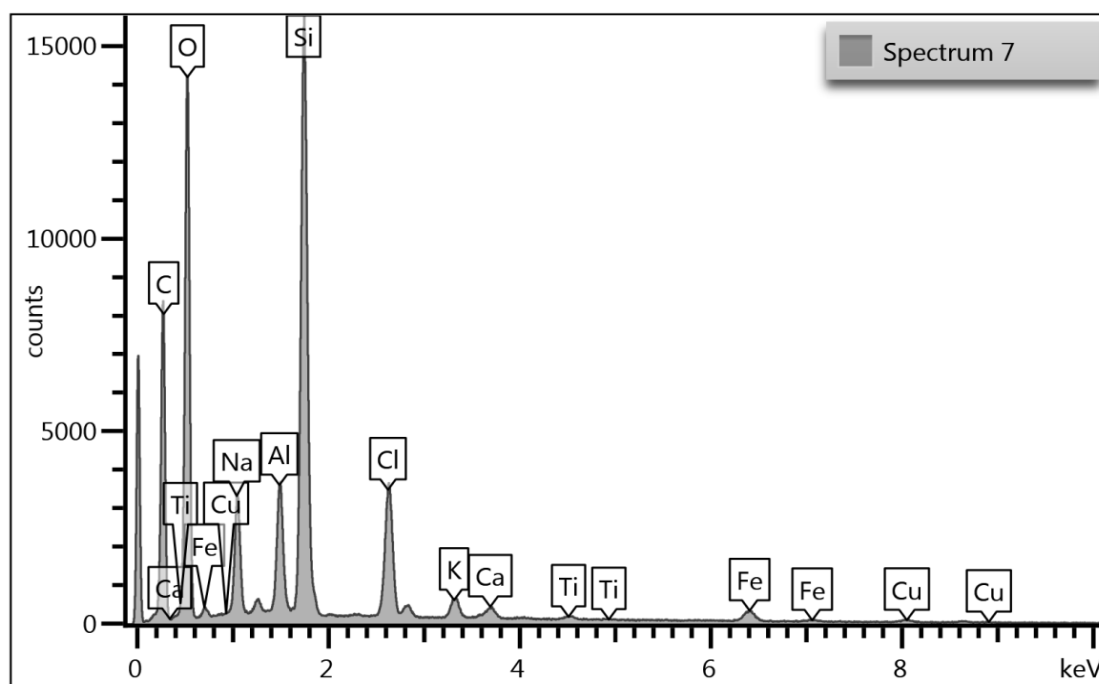
Metoda rentgenová krystalografie umožňuje určit absolutní strukturu molekul, vazebné délky a úhly v krystalové mřížce. Jelikož pracujeme s práškovým vzorkem, náš záměr při použití této techniky je zjistit, zda je vzorek organominerálního gelu více amorfni nebo krystalický.

Tabulka 15: Data z rentgenové krystalografie.

Minerál	Vzorec	Obsah (hm. %)
Křemen	SiO ₂	58,59
Halit	NaCl	15,82
Muskovit	KNaSiO _x	4,94
Ortoklas	KAlSi ₃ O ₈	3,71
Albit	NaAlSi ₃ O ₈	9,02
Kaolinit	Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄	0,12
amorfni podíl		7,79

Data z rentgenové krystalografie potvrzují fakt, že ve struktuře OMG se vyskytují jílovité minerály, viz tabulka 15, jako například Kaolinit. Jsou zde i zástupci ostatních minerálních skupin jako například živce (Ortoklas, Albit) a slídy (Muskovit). Výskyt Halitu nelze brát jako věrohodnou informaci, kvůli jeho obsahu v roztoku použitého k izolaci OMG. Nečekaným výsledkem je velmi malý amorfni podíl ve struktuře. Za přesnější ukazatel organické hmoty v gelu jsou považována data z termogravimetrické analýzy. Hodnota amorfniho podílu okolo 8 hmotnostních % je pravděpodobně nepřesná a její zpřesnění je v rámci dalšího studia.

Kromě vizualizace mikroskopické struktury vysušeného vzorku gelu byl pomocí elektronové mikroskopie identifikován kvantitativní obsah různých prvků. Obsah prvků v OMG lze vidět na obrázku 18. Vysoký obsah křemíku není překvapivý, stejně tak jako hliníku, hořčíku a potažmo i vápníku, protože tyto prvky tvoří základ většiny minerálních struktur. Obsah uhlíku je zavádějící a nelze ho zařadit jako důvěryhodnou informaci o struktuře, protože vzorek je znečištěn od uhlíkové pásky použité v konstrukci elektronového mikroskopu. Obsah Chlóru je pravděpodobně zapříčiněn vyvolávacím roztokem, který obsahoval rozpuštěný chlorid sodný.



Obrázek 18: SEM analyzá

V tabulce 16 jsou zobrazeny hmotnostní obsahy těchto prvků.

Tabulka 16: Prvky z SEM analyzá

Prvek	Obsah (% hm.)
O	33,36
Na	3,08
Al	2,75
Si	13,25
Cl	4,73
K	1,01
Ca	0,6
Ti	0,28
Fe	2,26
Cu	0,12

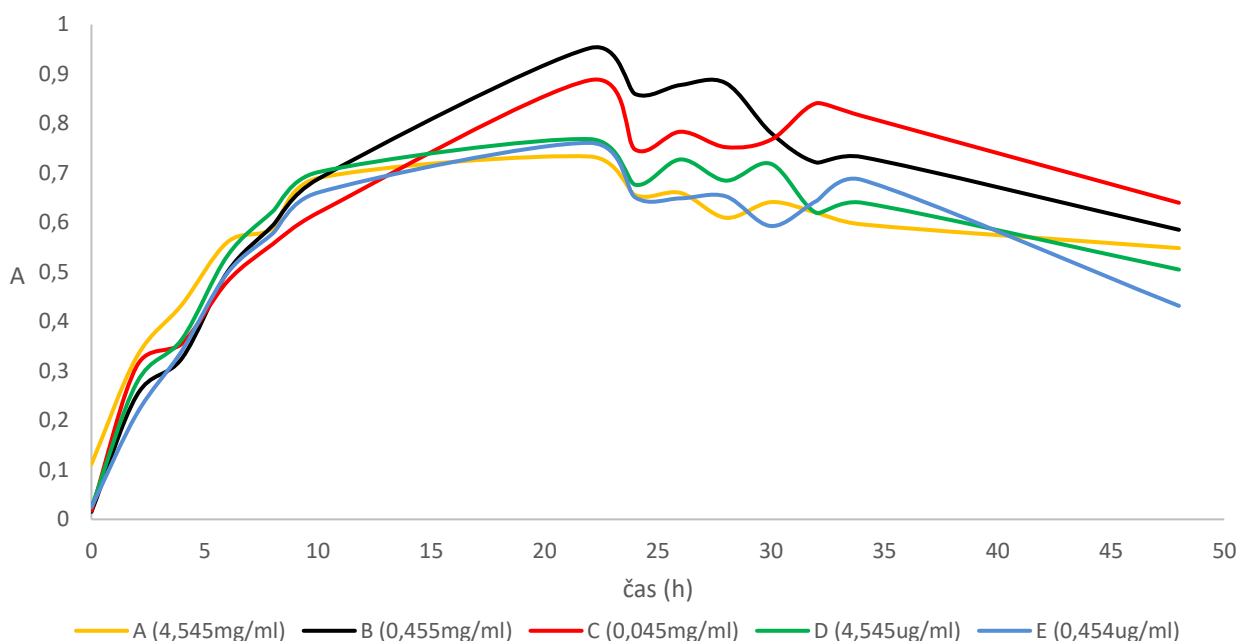
5.4 Vliv organominerálního gelu na růst půdních bakterií

Poslední část charakterizace OMG se zaměřuje na jeho možný vliv na mikroedafon obsažený v půdě. Je známo, že OMG je svým hmotnostním zastoupením v půdě minoritní složkou. Přesto jeho vliv na půdní mikroedafon může být nezanedbatelný. Vyšší koncentrace gelu, mohou ukázat, zda se půdní bakterie dokáží živit tímto gelem a rozkládat ho, nebo naopak budou tyto koncentrace inhibovat růst bakterií.

Použité bakterie *Cupriavidus necator* H16 patří mezi gram-negativní striktně respirační fakultativně chemolitoautotrofní bakterie vyskytující se ve sladké vodě či v půdě. Tyto bakterie využívají jak organické sloučeniny, tak vodík jako zdroj energie a uhlíku. Jako živné médium bylo zvoleno pevné agárové médium Nutrient Broth.

První experiment byl pilotní studií ve všech ohledech. Doposud nejsou zveřejněny žádné studie, které by řešili podobný problém. Koncentrace gelu byla zvolena intuitivně. Časový úsek měření aktivity zvolených bakterií byl zvolen v širším měřítku pro jistotu zachycení veškerých možných událostí. Graf, růstových křivek lze vidět na obrázku 19.

Experiment probíhal za použití ELISA readeru a vzorky byly měřeny každé dvě hodiny při vlnové délce 630 nm.



Obrázek 19: Růstové křivky bakterií *Cupriavidus necator* H16

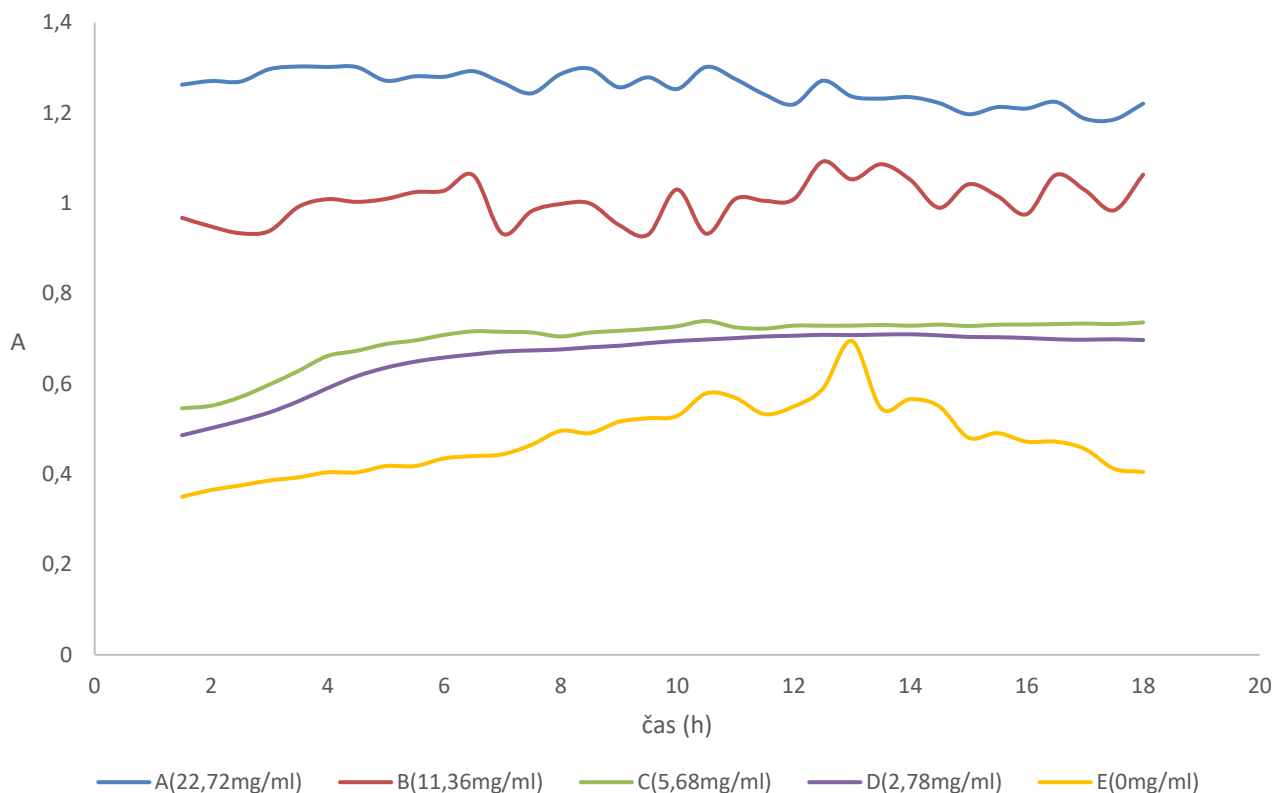
Každá měřená jamka na destičce obsahovala 50 μ l roztoku OMG o příslušné koncentraci, 50 μ l živného média a 10 μ l inokula s bakteriemi.

Z grafu je patrné, že OMG neinhibuje růst ve zvoleném koncentračním rozmezí. Další fakt, který lze vyčíst z grafu je ten, že po přibližně 20 hodinách začíná aktivita stagnovat a kultura bakterií dále neroste. Pokud se zaměříme na rozdíl křivek v závislosti na koncentraci OMG tak je patrné, že nejvyšší koncentrace (4,545 mg/ml) nevykazuje nejvyšší růst, ale naopak druhá (0,455 mg/ml) a třetí (0,045 mg/ml) koncentrace mají velmi podobný průběh a dosahují

nejvyšších hodnot absorbance. Tyto rozdíly jsou nepatrné a nelze usuzovat měřitelný efekt OMG na růst bakterií.

Na tento experiment navazuje další, ve kterém jsme chtěli ověřit, zda vyšší koncentrace gelu budou mít podobný průběh. Graf z tohoto experimentu lze vidět na obrázku 20.

Data vykazují silné výkyvy, hlavně při vyšších hodnotách koncentrací, což je vysvětleno tím, že při těchto koncentracích se v jamkách tvořila sedlina OMG. Bylo ověřeno, že bakterie při koncentraci gelu nad 10 mg/ml, nevykazují téměř žádný růst a jsou ve fázi stagnace.



Obrázek 20: Růstové křivky při vyšších koncentracích organominerálního gelu

6 DISKUZE VÝSLEDKŮ

Jak z názvu vyplývá, tak organominerální gel, je tvořen organickou a minerální složkou. Charakterizace těchto složek probíhala odděleně, ale teprve propojení získaných poznatků nám vypovídá cenné informace o charakteru tohoto půdního gelu. Výsledky z infračervené spektroskopie naznačují na rozmanitost organické matrice OMG. Je zde několik typů funkčních skupin a z toho vyplývá, že tento gel bude mít široké spektrum vazebných možností. Díky tomu může gel zprostředkovávat imobilizaci kovů, přenos živin anebo také zajišťovat pohyblivou strukturu gelu, která může být složena z agregujících částic v závislosti na okolních podmínkách. Nebyla by to první entita, která tyto vlastnosti v půdě má.

Strukturu OMG nám přiblížila metoda elektronové mikroskopie. Je zde jasně patrná deskovitá struktura a tento fakt zapadá do již uskutečněných experimentů. Uvažuje se, že důležitou roli zde hrají jílovité minerály, které tyto struktury vytvářejí svojí přirozenou uspořádaností. Zdá se, že to má zásadní vliv i na další funkce gelu. Při vysušeném stavu jsou půdní částice tímto gelem obaleny, to může například zabránit dalšímu vysoušení částic a gel pravděpodobně působí jako ochranná vrstva před vnějšími vlivy. Po hydrataci půdy by gel nabobtnal a opět se propojil do funkčního souboru. Otázkou zůstává, zda je vůbec tento scénář možný. Zda gel disponuje strukturou, která by byla schopná daných vlastností. Pokud vezmeme v potaz, že jeho minerální složka tvoří přibližně 65 % struktury, tak zbylých 35 % struktury musí být velmi konformačně a vazebně variabilní a přizpůsobivý, aby dokázala propojit fyzikálně a chemicky odlišné skupiny minerálů. Předpokládám, že zde leží celá podstata univerzálnosti toho gelu v půdě.

Druhá možná cesta vysvětlení, tak složité a variabilní struktury je, že desky organominerálního gelu mohou být navenek interakčně slabé a zásadní roli v „zabalení“ částic gelem hraje voda.

Chemická charakterizace opět zpřesnila pohled na organominerální gel. Zjistili jsme, že údaje nepřečištěného gelu byly zatíženy velkou chybou kvůli znečištění. To je nejvíce patrné na obsahu uhlíku z elementární analýzy, jehož procentuální obsah stoupl o téměř 10 %. Stejně tak obsahy dalších prvků se zpřesnili. Uhlík je často brán jako ukazatel organické hmoty, a v našem případě nám obsah organické hmoty v gelu zpřesňuje termogravimetrická analýza na 35 %. Zbylých 65 % tvoří nespálitelná minerální část. Tato metoda poskytla i další údaje, OMG se rozkládá přibližně ve 2 krocích, to nahrává 2 možným strukturám, respektive 2 možným strukturně odlišným agregátům.

Emisní spektrometrií byly doplněny obsahy kovů v OMG. Patrně by mělo následovat studium jejich role a chemická forma v této složité struktuře. Chemická forma prvků by nám také mohla pomoci v pochopení vazebných možností organické matrice. Novinkou, je zjištěný obsahů těchto kovů i v roztoku použitým pro izolaci. Paradoxně všechny kovy kromě Lithia měli obsahy pod limity detekce.

Novým směrem výzkumu je mikrobiální aktivita na OMG, kde se podařilo získat první data o tom, zda gel podporuje nebo inhibuje růst bakterií. Pro několik koncentrací OMG byli zjištěny závislosti růstových křivek bakterií na čase. Závěrem lze říci, že organominerální gel nemá výrazný vliv na činnost bakterií. Z růstových křivek se nedá usuzovat, zda bakterie jsou schopny využívat organickou hmotu z gelu ke svému růstu, nebo jestli s gelem nijak

neinteragují. Každopádně zde není patrný žádný inhibiční náznak, ani při vysokých tak nízkých koncentracích. V této oblasti zůstává nadále obrovský prostor pro výzkum.

Celou experimentální část lze shrnout ve 3 krocích. Strukturní analýza potvrdila předešlé výzkumy a hypotézy o deskovité struktuře. K ověření vyvstala další hypotéza o možných konformacích ve struktuře gelu. Pomocí chemické analýzy byla určena organická hmota na 35 % hmotnosti gelu, a také bylo určeno její přibližné složení a získali jsme povědomí o funkčních skupinách, které se v této části gelu vyskytují. Tyto poznatky ještě přesvědčivěji vedou k tomu, že organická matrice opravdu obsahuje huminové látky. Dále byly rozšířeny znalosti o obsahu několika minerálů ve struktuře gelu.

7 ZÁVĚR

Souborem několika analytických metod byl proveden základní výzkum organominerálního gelu. Tento gel získaný z půdy, je tématem několika málo vědců, a to omezuje vědecký pokrok v této oblasti. Přesto zde existuje nadšení, které posunuje výzkum kupředu. Jednoznačně je tato složka půdy velmi zajímavá, protože v sobě spojuje dva životně důležité aspekty půdy. Stejně tak jako velmi podobné organokovové materiály, způsobily ve vědecko-technickém světě rozruch, možná jednou organominerální gel přinese rozruch, při nejmenším, ve vědeckém světě.

Tato diplomová práce měla za cíl provést sérii experimentů, které by prohloubili znalosti o organominerálním gelu a také navrhnout další směřování výzkumu této půdní složky. Patrně největším přínosem, který posunuje problematiku charakterizace organominerálního gelu, je získání přečištěného vzorku. To dopomohlo k získání přesnějších údajů o jeho složení a struktuře. I tak jsou v této oblasti další analýzy naprosto nezbytné. V této chvíli nejsme schopní potvrdit, že ve struktuře se nachází huminové látky, i když k tomu vedou výsledky všech analýz. Potvrdit toto tvrzení znesnadňuje fakt, že obsah OMG v půdě je velmi nízký. To velkým dílem znesnadňuje případnou extrakci organické matrice a zjištění její struktury. I přesto víme, že tato matrice dokáže kumulovat řadu kovů ve své struktuře. Prvkové složení OMG je proměnlivé a zásadně ovlivněno složením půdy a pravděpodobně i mikrobiální a vegetační složkou půdy.

Naproti tomu o minerálech, které jsou ve struktuře gelu víme poměrně dost informací i díky další vědecké skupině, která provádí tuto část charakterizace OMG. Předpokládáme, že minerály tvoří základ gelu, který interaguje s okolním prostředím. To uvažujeme, díky jeho deskovité struktuře ve vysušeném stavu. Získat informace o struktuře gelu v jeho přirozené hydratované podobě je v rámci dalšího studia. Dalším směrem by také měla být charakterizace vlivu OMG na mikrobiální, případně vegetační aktivitu.

V poslední řadě uvádím zamyšlení nad možnou funkční strukturou OMG. Všechny analýzy pracovali s usušeným vzorkem, který podléhal sušení a následnému seškrabání. Stejně tak nejpravděpodobnější hypotéza jeho izolace pracuje s tím, že na hladinu se dostávají vlastně pouhé útržky gelu, který je roztrhán sušením a dehydratací. I tento přístup ovšem zaujímá určité místo v popisu této zajímavé složky půdy, ale stejně tak bychom měli popisovat tento gel jako živý a funkční systém v hydratovaném stavu. Je pravděpodobné, že dosavadním postupem dokážeme odkrýt jen malou část toho, co se za podstatou organominerálního gelu skrývá. Jeho nejzajímavější funkce se nalézají právě v hydratované formě. Kde uvažuji, že komplex organické matrice, se díky hydrataci propojuje a tvoří souvislý celek v půdě, který dokáže transportovat živiny a minerály, do míst jejich absence a pravděpodobně má schopnost určité formy elementární komunikace, stejně jako kořeny rostlin dokáží vypouštět chemické látky do půdy, aby získali živiny pro svůj růst, a tak reagují na situaci v okolním prostředí. Ve vysušeném stavu se gel ujímá funkce ochranné vrstvy půdních částic před další dehydratací, ale v hydratovaném stavu předpokládám funkce, které nejsme schopné zjistit výzkumem pouze jeho útržků.

8 SEZNAM CITOVANÉ LITERATURY

- [1] ČSN ISO 11074. *Kvalita půdy - Slovník*. Praha: Český normalizační institut, 2007.
- [2] ČSN 75 0145. *Meliorace: Terminologie v pedologii*. Praha: Český normalizační institut, 1994.
- [3] JOSEF KOZÁK .. [ET AL.]. *Pedologie*. Praha: Česká zemědělská univerzita, Agronomická fakulta, 2002. ISBN 978-802-1309-074.
- [4] SMOLÍK, Ladislav. *Pedologie*. Praha: SNTL, 1957, 400 s.
- [5] *Pedologie a paleopedologie: celostátní vysokoškolská příručka pro stud. přírodověd. fak., skupiny stud. oborů geologické vědy*. Praha: Academia, 1990. ISBN 80-200-0153-0.
- [6] TOMÁŠEK, Milan. *Půdy České republiky*. 2. dopl. vyd. Praha: Český geologický ústav, 2000. ISBN 80-707-5403-6.
- [7] VALLA, Miloš. *Pedologické praktikum*. 2. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2002. ISBN 978-80-213-0914-2.
- [8] JANDÁK, Jiří, Eduard POKORNÝ a Alois PRAX. *Půdoznalství*. Vyd. 3., přeprac. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2010. ISBN 978-80-7375-445-7.
- [9] *Taxonomický klasifikační systém půd ČR* [online]. [cit. 2017-03-31]. Dostupné z: <http://klasifikace.pedologie.cz/index.php?action=showSystematickySoupis>
- [10] HORNÍK, Stanislav. *Fyzická geografie II*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986, 320 s.
- [11] TOMÁŠEK, Milan. *Půdy České republiky*. 2. dopl. vyd. Praha: Český geologický ústav, 2000, 320 s. ISBN 80-707-5403-6.
- [12] SÁŇKA, Milan a Jan MATERNA. *Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR*. 2. dopl. vyd. Praha: Ministerstvo životního prostředí, 2004, 320 s. Planeta (Ministerstvo životního prostředí).
- [13] Vyhláška č. 275/1998 o agrochemickém zkoušení zemědělských půd a zjišťování půdních vlastností lesních pozemků.
- [14] ČSN EN ISO 14688-1. *Geotechnický průzkum a zkoušení - Pojmenování a zařizování zemin: Část 1: Pojmenování a popis*. Praha: Český normalizační institut, 2003.

- [15] BELL, F. G. *Environmental geology: principles and practice*. Malden, MA: Blackwell Science, c1998. ISBN 08-654-2875-1.
- [16] CAMBEL, Bohuslav. *Nerastné suroviny, ich vznik, význam a geológia*. Bratislava: Slovenské vydavateľstvo technickej literatúry, 1956. Edícia teoretickej literatúry.
- [17] [online]. [cit. 2017-03-31]. Dostupné z: [http://www.isric.org/global-issues#Combating land degradation](http://www.isric.org/global-issues#Combating%20land%20degradation)
- [18] Uncoordinated new retail development and its impact on land use and soils: A pilot study on the urban fringe of Prague, Czech Republic. *Landscape and Urban Planning*. 2010, **94**(2), 141-148.
- [19] VRANOVÁ, V., REJŠEK, K. Multimediální učební pomůcka pro půdoznalecká terénní šetření a odběr půdních vzorků: přímé zaměření na specifické znaky zemědělských a lesních půd a specifika půd zastavěných oblastí. [Online] Ústav geologie a pedologie, Lesnické a dřevařské fakulty, Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně, 2007. [Citace: 26.1.2017.] Dostupné na: http://jirman.info/www/ugp/terenni_setreni/index.html
- [20] SUMNER, M. E. *Handbook of soil science*. Boca Raton, Fla: CRC Press, c2000. ISBN 08-493-3136-6.
- [21] *Center for Environmental Research Information, US EPA: escription and Sampling of Contaminated Soils: A Field Pocket Guide*. Cincinnati. United States Environmental Protection Agency, 1991. ISBN EPA/625/12-91/002.
- [22] KAMENÍČKOVÁ, I. *Hydropedologie: Hydropedologické praktikum*. Brno: Fakulta stavební, Vysoké učení technické, 2006.
- [23] KOSIL, Vladimír. *Půdoznalství*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1966.
- [24] MIKULA, Pavel. *Organická hmota v půdě: (studijní zpráva)*. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998. Studijní informace. ISBN 80-861-5322-3.
- [25] PICCOLO, Alessandro. *Humic substances in terrestrial ecosystems*. New York: Elsevier, 1996. ISBN 978-0-444-81516-3.

- [26] GROSSMAN, R. B. a W. C. LYNN. Gel-Like Films that May Form at the Air-Water Interfaces in Soils1. *Soil Science Society of America Journal*. 1967, **31**(2), 259-. DOI: 10.2136/sssaj1967.03615995003100020032x. ISSN 0361-5995
- [27] VON WANDRUSZKA, Ray. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. *Geochemical Transactions*. vol. 1, issue 1, s. 10-. DOI: 10.1186/1467-4866-1-10.
- [28] DEBANO, L.F. Water repellency in soils: a historical overview. *Journal of Hydrology*. 2000, **231-232**, 4-32. DOI: 10.1016/S0022-1694(00)00180-3. ISSN 0
- [29] SEDLÁČEK, P. Hydrogely huminových kyselin - experimentální model i aplikační forma. Ph.D. thesis. Brno: VUT v Brn, Fakulta chemická, 2009. 139 s
- [30] SOIL HUMIC SUBSTANCES. *The formation of humic substances*, [online]. [cit. 2017-03-31]. Dostupné z: <http://karnet.up.wroc.pl/~weber/powstaw2.htm>
- [31] STEVENSON, F. J. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd ed. New York: Wiley, 1994. ISBN 04-715-9474-1.
- [32] STEINBERG, Christian. *Ecology of humic substances in freshwaters: determinants from geochemistry to ecological niches*. 2nd ed. New York: Springer, 2003. ISBN 35-404-3922-6.
- [33] KIPTON, H., J. POWELL a Raewyn M. TOWN. Solubility and fractionation of humic acid; effect of pH and ionic medium. *Analytica Chimica Acta*. 1992, **267**(1), 47-54. DOI: 10.1016/0003-2670(92)85005-Q. ISSN 00032670.
- [34] VESELÁ, L., KUBAL, M., KOZLER, J., INNEMANOVÁ, P.: Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. In *Chemické listy* 99, 2005, p. 711–717
- [35] SIMPSON, A., J. a kol.: Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwiss.*, 2002, vol. 89, p. 84–88
- [36] SKOKANOVÁ, M.; DERCOVÁ, K.. Humínové kyseliny. Pôvod a štruktúra. *Chemické Listy* 2008, vol. 102, s. 262-268. ISSN 1213-7103
- [37] HERAUSGEGEBEN VON A. STEINBÜCHEL a M. HOFRICHTER. *Biopolymers*. Weinheim: Wiley-VCH, 2001. ISBN 978-352-7302-901.

- [38] VRBA, Vladimír, HULEŠ, Ludvík: Humus - půda - rostlina (2) Humus a půda. Biom.cz. 2006-11-14 [cit. 2017-03-16]. ISSN: 1801-2655.
- [39] FEDOTOV, G. N., O. N. BYSTROVA a E. A. MARTYNKINA. On the nanostructural organization of soils. *Doklady Chemistry*. 2009, **425**(2), 69-72. DOI: 10.1134/S0012500809040016. ISSN 0012-5008. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0012500809040016>
- [40] Colloidal Soil Structures Probed by Electron Microscopy. *Doklady Chemistry*. 2005, **403**(1), 129-131.
- [41] NAZAROVA, A. E., G. N. FEDOTOV a V. I. PUTLYAEV. Minerals in gel films. *Doklady Chemistry*. 2009, **424**(2), 23-26. DOI: 10.1134/S0012500809020013. ISSN 0012-5008. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0012500809020013>
- [42] FEDOTOV, G. N., V. I. PUTLYAEV, T. F. RUDOMETKINA a D. M. ITKIS. Nanostructural organization of soils. *Doklady Chemistry*. 2008, **422**(2), 265-268. DOI: 10.1134/S0012500808100066. ISSN 0012-5008. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0012500808100066>
- [43] FEDOTOV, G. N., D. M. ITKIS, V. I. PUTLYAEV, G. G. OMEL'YANYUK a M. V. NIKULINA. Soil gels by atomic force microscopy. *Doklady Chemistry*. 2008, **421**(1), 168-170. DOI: 10.1134/S0012500808070045. ISSN 0012-5008. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0012500808070045>
- [44] FEDOTOV, G. N., Yu. D. TRET'YAKOV, G. V. DOBROVOL'SKII, V. I. PUTLYAEV, E. I. PAKHOMOV, A. A. FAN'KOVSKAYA a T. N. POCHATKOVA. Water resistance of soil aggregates and gel structures. *Doklady Chemistry*. 2006, **411**(1), 215-218. DOI: 10.1134/S0012500806110061. ISSN 0012-5008. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0012500806110061>
- [45] FEDOTOV, G. N., S. A. SHOBA, G. V. DOBROVOL'SKII, V. I. PUTLYAEV, E. I. PAKHOMOV, A. A. FAN'KOVSKAYA a T. N. POCHATKOVA. Origin of gel films naturally rising in water from air-dry soils. *Moscow University Soil Science Bulletin*. 2015, **70**(4), 147-152. DOI: 10.3103/S0147687415040031. ISSN 0147-6874. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.3103/S0147687415040031>

- [46] FEDOTOV, G. N., S. A. SHOBA, A. I. POZDNYAKOV, A. E. PUZANOVA, E. I. PAKHOMOV, A. A. FAN'KOVSKAYA a T. N. POCHATKOVA. Structural transition in the humic matrix of soil gels and its effect on the soil properties. *Eurasian Soil Science*. 2014, **47**(9), 873-883. DOI: 10.1134/S1064229314090038. ISSN 1064-2293. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S1064229314090038>
- [47] ANDERSON, Charles E. Lithium in Plants. *Lithium and Cell Physiology*. New York, NY: Springer New York, 1990, , 25. DOI: 10.1007/978-1-4612-3324-4_3. ISBN 978-1-4612-7967-9.

9 SEZNAM ZTRATEK

OMG	Organominerální gel
CEC	kationtová výměnná kapacita
HL	Huminové látky
HK	Huminové kyseliny
FK	Fulvinové kyseliny
HU	Humin
EPMA	Elektronový mikroskopický analyzátor
AFM	Atomová mikroskopie
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie

10 PŘÍLOHA

Difraktogram OMG z rentgenové krystalografie

